

Yanna Guo

Energetische Analyse von Entfaltungsmustern in Membranproteinen

eingereicht als

Bachelorarbeit

An der

HOCHSCHULE MITTWEIDA
UNIVERSITY OF APPLIED SCIENCES

Fakultät Mathematik, Naturwissenschaften, Informatik

Mittweida, 2011

Erstprüfer : Prof. Dr. rer. nat. Dirk Labudde

Zweitprüfer : Dipl. -Inf. (FH) Daniel Stockmann

Vorgelegte Arbeit wurde verteidigt am :

Bibliographische Beschreibung

Guo Yanna:

Energetische Analyse von Entfaltungsmustern in Membranproteinen.

Mittweida, Hochschule Mittweida (FH), Fakultät Mathematik –
Naturwissenschaften – Informatik, Bachelorarbeit, 2011

Referat

Im Rahmen dieser Bachelorarbeit werden zwei große Teile bearbeitet. Der erste Teil ist die Erstellung der phylogenetischen Bäume mit drei verschiedenen Methoden. Dadurch könnte man die Verwandtschaft der Membranproteine übersichtlich erkennen. Der zweite Teil ist die Analyse der Hydrophobizitätsprofile und der Energieprofile für bestimmten Membranproteine. Durch den Vergleich dieser beiden Profile schließt man eine Aussage, mit der man ohne SMFS-Experiment der Membranproteinen auch die Entfaltung der Membranproteinen einfach zusammenfassen kann.

Danksagung

Besonderer Dank gilt meinen Betreuer Prof. Dr. Dirk Labudde, der mir die Hilfe für diese Bachelorarbeit gibt. Weiterhin danke ich meinem Vater, der bei der Finanzierung unterstützt hat.

Inhalt

Inhalt	I
Abbildungsverzeichnis.....	II
Tabelleverzeichnis	IV
0 Aufgabenstellung	1
1 Grundlage.....	2
1.1 Membran	2
1.2 Phylogramm	3
1.3 Muster in Membranproteinen.....	4
1.4 Stabilität des Proteins	4
1.5 Hydrophobizität.....	4
2 Methode	6
2.1 Phylogenetische Bäume	6
2.1.1 Distanzmethoden.....	6
2.1.2 Maximum-Parsimony-Methode.....	8
2.1.3 Maximum-Likelihood-Methode	9
2.2 Mustererkennung.....	9
2.3 Hydrophobizitätsprofile.....	10
2.4 Energieprofile.....	11
3 Ergebnis	13
3.1 Phylogenetischer Baum mit Phylip.....	13
3.1.1 Phylogenetischer Baum mit Distanzmethode	13
3.1.2 Phylogenetischer Baum mit Parsimonymethoden	15
3.2 Muster	17
3.3 Hydrophobizitätsanalyse.....	17
3.4 Energieanalyse	27
4 Diskussion.....	31
4.1 Phylogenetischer Baum	31
4.2 Muster	31
4.3 Zusammenhang zwischen Hydrophobizitätsprofile und Energieprofile.....	33
4.3.1 Analyse der Bacteriorhodopsin.....	33
4.3.2 Analyse der Halorhodopsin.....	35
4.3.3 Analyse der Human Aquaporin-1	37
4.3.4 Analyse der Bovine Rhodopsin	38
4.3.5 Analyse der L-arginine/agmatine Antiporter AdiC	42
5 Literaturverzeichnis	46

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1. 1: Struktur der Zellmembran.....	2
Abbildung 2. 1: Baum mit wenigsten Mutationen [11]	8
Abbildung 2. 2: Baum mit mehreren Mutationen [11]	8
Abbildung 2. 3: Startseite der Prosite	9
Abbildung 2. 4: Ausgabe der Prosite	10
Abbildung 2. 5: Eingabeseite zu Berechnung des Energieprofiles für untersuchtes Protein	11
Abbildung 2. 6: Ergebnis für Bacteriorhodopsin	12
Abbildung 3. 1: Baum mit Distanzmethode	14
Abbildung 3. 2: Der durch drawtree generierte Baum mit Distanzmethoden	15
Abbildung 3. 3: Der durch drawgram generierte Baum mit Distanzmethoden ...	15
Abbildung 3. 4: Baum mit Parsimonymethoden	16
Abbildung 3. 5: Der durch drawtree generierte Baum mit Parsimonymethoden	16
Abbildung 3. 6: Der durch drawgram generierte Baum mit Parsimonymethoden	16
Abbildung 3. 7: Hydrophobizitätsprofil für Bacteriorhodopsin bei window size 19.....	18
Abbildung 3. 8: Hydrophobizitätsprofil für Halorhodopsin bei window size 19 20	
Abbildung 3. 9: Hydrophobizitätsprofil für Human Aquaporin 1 bei window size 19.....	21
Abbildung 3. 10: Hydrophobizitätsprofil für Bovine Rhodopsin mit Disulfidbrückenbindung bei window size 19	22
Abbildung 3. 11: Hydrophobizitätsprofil für Bovine Rhodopsin ohne Disulfidbrückenbindung bei window size 19	23
Abbildung 3. 12: Hydrophobizitätsprofil für AdiC bei N-Terminus Entfaltung bei window size 19	25
Abbildung 3. 13: Hydrophobizitätsprofil für AdiC bei C-Terminus Entfaltung bei window size 19	26
Abbildung 4. 1: Der durch drawgram generierte Baum mit Distanzmethoden ...	31
Abbildung 4. 2: Hydrophobizität bei Window Size 19.....	34
Abbildung 4. 3: Energieprofile der Bacteriorhodopsin.....	34
Abbildung 4. 4: Hydrophobizität bei window size 19	36
Abbildung 4. 5: Energieanalyse der Halorhodopsin	36
Abbildung 4. 6: Hydrophobizität bei Window Size 19.....	37
Abbildung 4. 7: Energieanalyse der Human Aquaporin-1.....	38
Abbildung 4. 8: Hydrophobizität bei window size 19 mit Disulfidbrückenbindung	39

Abbildung 4. 9: Energieanalyse der Bovine Rhodopsin mit Disulfidbrückenbindung	39
Abbildung 4. 10: Hydrophobizität bei window size 19 ohne Disulfidbrückenbindung	41
Abbildung 4. 11: Energieanalyse der Bovine Rhodopsin ohne Disulfidbrückenbindung	41
Abbildung 4. 12: Hydrophobizität bei Window Size 19 bei N-Terminus Entfaltung.....	43
Abbildung 4. 13: Energieanalyse bei N-Terminusentfaltung	43
Abbildung 4. 14: Hydrophobizität bei Window Size 19 bei C-Terminus Entfaltung.....	44
Abbildung 4. 15: Energieanalyse bei C-Terminusentfaltung	45

Tabelleverzeichnis

Tabelle 2. 1: Berechnung der relativen Mutierbarkeit [9]	7
Tabelle 3. 1: Name Verdeutlichung	13
Tabelle 3. 2: Astlängen zwischen Knoten mit Distanzmethoden	14
Tabelle 3. 3: Hits in Membranproteinen	17
Tabelle 3. 4: Hydrophobizität für Bacteriorhodopsin bei window size 19	19
Tabelle 3. 5: Hydrophobizität für Halorhodopsin bei window size 19	20
Tabelle 3. 6: Hydrophobizität für Human Aquaporin 1 bei window size 19	21
Tabelle 3. 7: Hydrophobizität für Bovine Rhodopsin mit Disulfidbrückenbindung bei window size 19	23
Tabelle 3. 8: Hydrophobizität für Bovine Rhodopsin ohne Disulfidbrückenbindung bei window size 19	24
Tabelle 3. 9: Hydrophobizität für AdiC bei N-Terminus Entfaltung bei window size 19	25
Tabelle 3. 10: Hydrophobizität für AdiC bei C-Terminus Entfaltung bei window size 19	26
Tabelle 3. 11: Energieanalyse der Bacteriorhodopsin	27
Tabelle 3. 12: Energieanalyse der Halorhodopsin	28
Tabelle 3. 13: Energieanalyse der Human Aquaporin 1	28
Tabelle 3. 14: Energieanalyse der Bovine Rhodopsin mit Disulfidbrückenbindung	29
Tabelle 3. 15: Energieanalyse der Bovine Rhodopsin ohne Disulfidbrückenbindung	29
Tabelle 3. 16: Energieanalyse der AdiC bei N-Terminusentfaltung	30
Tabelle 3. 17: Energieanalyse der AdiC bei C-Terminusentfaltung	30
Tabelle 4. 1: gefundene Muster in Membranprotein	33
Tabelle 4. 2: Positionsanalyse der Bacteriorhodopsin	35
Tabelle 4. 3: Positionsanalyse der Halorhodopsin	37
Tabelle 4. 4: Positionsanalyse der Human Aquaporin-1	38
Tabelle 4. 5: Positionsanalyse der Bovine Rhodopsin mit Disulfidbrückenbindung	40
Tabelle 4. 6: Positionsanalyse der Bovine Rhodopsin ohne Disulfidbrückenbindung	42
Tabelle 4. 7: Positionsanalyse der AdiC bei N-Terminusentfaltung	44
Tabelle 4. 8: Positionsanalyse der AdiC bei C-Terminusentfaltung	45

0 Aufgabenstellung

Das folgende Kapitel 1 führt in ausgewählte Grundlagen dieser Bachelorarbeit ein und erklärt die zum Verständnis notwendigen Begriffe. Dazu gehören die Membran, das Phylogramm, Muster in Membranproteinen, die Stabilität des Proteins und die Hydrophobizität der Aminosäure.

In Kapitel 2 werden die Methoden, mit der phylogenetische Bäume generiert werden können, vorgestellt. Es gibt 3 häufigste Methoden, nämlich die Distanzmethode, Parsimonymethode und Maximum-Likelihood-Methode. Anschließend wird es erläutert, wie man Muster in den Membranproteinen finden kann. Am Ende werden die Hydrophobizitätsprofile und die Energieprofile in ersten Blick gebracht.

Das Kapitel 3 fasst die Ergebnisse zusammen. Durch Phylip können die phylogenetischen Bäume mit verschiedenen Methoden (Distanzmethode und Parsimonymethode) generiert werden. Alle Hits, die in Membranproteinen vorhanden sind, werden hier tabellarisch gezeigt. Abschließend werden die Hydrophobizitätsprofile und die Energieprofile der Membranproteinen analysiert.

Im Kapitel 4 werden die Ergebnisse diskutiert.

1 Grundlage

1.1 Membran

Jede Zelle ist von einer Membran umgeben. Darunter sind die meisten Zellen mit einem umfangreichen intrazellulären Membransystem ausgestattet. Membranen zäunen das Innere der Zelle von seiner Umgebung ab. Sie lassen Wasser, bestimmte Ionen und Substrate in die Zelle hindurch. Diese sind von entscheidender Bedeutung für das Energie-Budget der Zelle und scheiden letztlich Substrate aus. Sie schützen die Zelle. Ohne sie würde der Inhalt der Zelle in ihre Umgebung diffundieren. Die Moleküle und Zelleorgane gehen verloren und die Stoffwechselwege müssen in einem thermischen Gleichgewicht gesucht werden. Dies führt zum Tod jedes lebenden Systems. [1]

Die Struktur der Zellmembran wird in der Abbildung 1.1 dargestellt. Alle biologischen Membranen haben eine Menge von Gemeinsamkeit in Bezug auf Organisation und Zusammensetzung: [1]

1. Sie haben eine durchschnittliche Dicke von 70 Å.
2. Sie bestehen hauptsächlich aus Lipiden und Proteinen.
3. Sie fungieren als eine durchlässige Barriere und sind nur für ausgewählte Stoffe durchlässig. [1]

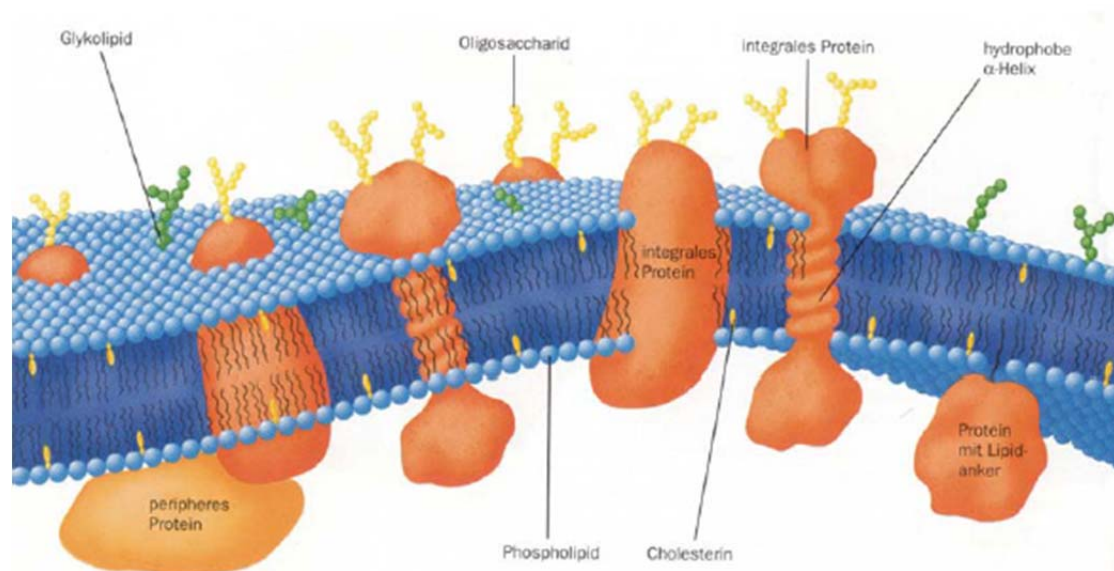


Abbildung 1. 1: Struktur der Zellmembran¹

¹ <http://www-brs.ub.ruhr-uni-bochum.de/netahtml/HSS/Diss/WolfSteffen/diss.pdf>
(Struktur der Zellmembran mit verschiedenen Membranproteinklassen, dazu gehören integrales, peripheres Membranprotein und membranassoziertes Protein mit Lipidanker.)

Phospholipide sind die häufigsten Moleküle in Membranen. Sie bestehen aus zwei Teilen. Der eine ist eine hydrophilen (polaren) Kopfgruppe (die Phosphat-Gruppe mit dem beigefügten Rest R) und der andere ist eine hydrophobe (lipophile) Fettsäurekette. Diese Struktur leistet eine Tendenz, organisierte Strukturen und monomolekulare Schichten zu bilden, deren Grad der Organisation abhängig von der Länge der Fettsäurereste und der Anzahl der Bildung von Doppelbindungen an Phospholipide ist. Die Niederländer E. GORTER und F.GRENDEL haben im Jahr 1925 entdeckt, dass zwei solche Schichten sich gegenüber der Orientierung zusammen ein feines Membran-Modell erzeugen. Die hydrophoben Teile des Moleküls konzentrieren sich in der Innenseite der Doppelschicht. Die hydrophilen Teile liegen nach außen gegenüber. [1]

Die Proteine werden in der Doppelschicht eingefügt und sind nicht nur mit ihr zu verbinden. Einige von ihnen nehmen einen Teil der Membranschicht ein. Die hydrophoben Teile sind in Kontakt mit der hydrophoben Ende der Lipid-Moleküle. Die polaren Gruppen ragen aus der Membran hinaus. [1]

1.2 Phylogramm

Phylogenie beschreibt eine Klassifikationswissenschaft, die jedes Lebewesen in seine eigene Gattung einordnet. Diese Einordnung kann auf einen phylogenetischen Baum dargestellt werden, aus dem die Verwandtschaftsbeziehung übersichtlich analysiert wird. Alle Lebewesen in der Welt stammen von einem gemeinsamen Vorgänger ab. Mit fortschreitender Zeit stirbt das alte Lebewesen aus, das von der Umwelt abhängig war. Die neue Spezies entsteht mit passender Umgebung. „Phylogenetischer Baum (Phylogramm) kann unter anderem aus multiplen Alignments von DNA- oder Proteinsequenzen abgeleitet werden“. [2] Durch die Differenzierung der Proteinsequenz kann der phylogenetische Baum in einem topologischen Graph abgebildet werden. Das heißt, es gibt eine neue Genkopie oder es wird von einem gemeinsamen Vorfahren ein neues Protein abgebildet. Die Länge des Asts stellt den evolutionären Abstand zwischen den beiden Proteinen dar. Durch den phylogenetischen Baum wird sowohl die biologische Evolution von einzelligen Organismen nach vielzelligen Organismen untersucht, als auch die Differenzierungszeit der verschiedenen Lebewesen grob abgeschätzt. Dies ist eine neue Methode zur Forschung der biologischen Evolution auf molekularer Ebene. Für die Klassifizierung der Lebewese kann der phylogenetischen Baum als wichtige Begründung dienen.

In diesen folgenden Abschnitten werden Bacteriorhodopsin aus *Halobacterium salinarum*, Halorhodopsin aus *Halobacterium salinarum*, Sensory Rhodopsin aus *H. Salinarum*, Human Aquaporin 1 aus Menschen, Bovine Rhodopsin und L-arginine/agmatine Antiporter AdiC aus *Escherichia coli* untersucht.

1.3 Muster in Membranproteinen

In diesem Abschnitt wird unter Muster die Pattern oder Profile in den Proteinen verstanden. Dazu steht die Prosite zur Verfügung, die die Proteinfamilien enthält. Die Einteilung des Proteins basiert auf die einzelnen konservierten Motive, die in Form von regulärem Ausdruck in Prosite abgespeichert werden. Die Motive sind oft in dem aktiven Zentrum oder der Bindungsstelle für Substrate, Coenzyme usw. lokalisiert. Die Funktionen des Musters sind bereits in den Datenbanken gelistet. Für ein unbekanntes Protein ist es möglich in Prosite, die vorhandenen Muster zu finden. Damit kann die Funktion dieses Proteins vorhergesagt werden.

1.4 Stabilität des Proteins

Um die Stabilität des Proteins zu untersuchen, ermitteln Biochemiker die Denaturierung von Protein bei der Einwirkung von Hitze oder bei der zunehmenden Konzentration der häufig benutzten denaturierenden Wirkstoffe wie Harnstoff oder Guanidiniumhydrochlorid. Daraus folgt, dass die Stabilität des Proteins so geringfügig ist und nur dem Energiebeitrag einer oder zweier Wasserstoffbrücken entspricht. [3]

Wie der native Zustand des Proteins erreicht wird, ist im Folgenden zu klären. Zuerst werden viele polare Atome im Inneren des Moleküls unter anderem Stickstoffatome der Hauptkette und Sauerstoffatome von Carbonylgruppen eingelagert. Aufgrund ihres Potenzials bilden anschließend diese polaren Atome mit anderen gleichermaßen abgeschirmten polaren Atomen Wasserstoffbrücken aus. [3] „Fehlen auch nur wenige Wasserstoffbrücken, kehrt das Protein lieber in den denaturierten Zustand zurück, damit diese polaren Atome Wasserstoffbrücken mit dem Lösungsmittel ausbilden können.“ [3] Nun wird ein kompakter Zustand gebildet. Als Konsequenz ergeben sich die Helix und die Faltblätter. [3]

„Die Tatsache geht darum, die mögliche Wechselwirkung zu optimieren und Sequenzen auszuwählen, bei denen dieses Optimum einzigartig ist und einen deutlich niedrigeren Energiegehalt hat als andere Zustände.“ [3]

1.5 Hydrophobizität

Das Protein ist durch viele mehrere Aminosäuren aufgebaut, die sich durch die Peptidbindung verbinden. In jeder einzelnen Aminosäure sind die Seitenketten (auch als Rest benannt) besonders wichtig, weil sie die physikalisch-chemische Eigenschaft tragen, die zur Erzeugung der verschiedenen Faltungsmuster notwendig ist. Manche Seitenketten sind polar, die sich mit Wasser, mit anderen polaren Seitenketten oder mit der Hauptkette zu Wasserstoffbrücken reagieren können. Manche Seitenketten

tragen chemische Gruppen wie Methan oder Benzol und sie können sich nicht mit Wasser thermodynamisch reagieren. Solche Aminosäuren bezeichnet man als hydrophobe Aminosäure. [4] Die Hydrophobizität der Aminosäuren bestimmt, wo die Aminosäure in der endgültigen Struktur des Proteins lokalisiert wird (Kyte, Doolittle 1982). Damit kann man die oben dargestellte Eigenschaft der Aminosäure quantifizieren, wird eine Definition, der Oktanol-Wasser-Verteilungskoeffizient K_{ow} (auch als Hydrophobizität), herbeigeführt. In der Regel wird dieser als dekadischer Logarithmus $\text{Log}(K_{ow})$ dargestellt. (siehe Formel 1.1)

$$P = \text{Log}(K_{ow}) = \text{Log} \frac{C_o}{C_w} = \text{Log} C_o - \text{Log} C_w$$

Formel 1. 1: Hydrophobizität der Aminosäure

C_o : Konzentration der Substanz in der Oktanol-Phase

C_w : Konzentration der Substanz in der Wasser-Phase

Zwei Bemerkungen zur Gleichung:

1. Die Substanz soll in der nicht dissoziierten Form vorliegen.
2. Die Ursache für die Anwendung des Oktanol-Wasser-Systems ist, dass dieses System ähnlich wie das Membran-Zytoplasma-System ist.

„Die relative Hydrophobizität eines Restes ermöglicht uns, seine Position innerhalb der Proteinstruktur vorherzusagen. Hydrophobe Reste findet man im Allgemeinen im Kernbereich eines Proteins, während sich polare Reste überwiegend an der Oberfläche befinden, wo sie mit der wässrigen Umgebung in Wechselwirkung stehen“ [5]. Für das Membranprotein ist eine Länge von 18-20 hydrophoben Aminosäuren notwendig, um das hydrophobe Innere der Lipiddoppelschicht der Membran durchzugehen (Kyte, Doolittle 1982). [6]

2 Methode

2.1 Phylogenetische Bäume

Zur Bildung des phylogenetischen Baums gibt es drei häufigste Methoden, nämlich die Distanzmethode, Parsimonymethode und Maximum-Likelihood-Methode. [7]

2.1.1 Distanzmethoden

Es gibt zwei Schritte in dieser Methode, die unterteilt werden können. Zuerst wird eine Distanzmatrix durch das multiple Alignment abgebildet. Im zweiten Schritt wird ein Baum mit Hilfe der UPGMA oder Neighbor-Joining berechnet. Diese Distanz kann mit verschiedenen Methoden berechnet werden. [8]

Kimuras Distanz: Zur Distanzmessung ist diese Methode ungenau, aber sie ist sehr nützlich für die erste grobe Berechnung des Baumes. „Als Distanz wird hier nur ein Maß dafür angegeben, wieviele Aminosäure zwischen zwei Sequenzen nicht identisch sind, unabhängig von der Aminosäure, die substituiert wurde.“ [8]

PAM (percent accepted mutation): Zur Distanzberechnung beobachtet die PAM-Matrix, welche Aminosäure ausgetauscht wurde. „Konservative Substitutionen werden anders bewertet als nicht-konservative.“ [8] Je weiter weg der evolutionäre Abstand der Sequenzen ist, desto geringer ist die Ähnlichkeit der Sequenzen und desto größer ist die Anzahl der Punktmutationen. Dayhoff definierte den evolutionären Abstand über die Anzahl Punktmutationen pro 100 Aminosäuren. Das heißt, 1 PAM ergibt ein Austausch pro 100 Aminosäuren, 2 PAM ergeben zwei Austausche pro 100 Aminosäuren usw. Bis jetzt sind nur die ausgezählten Punktmutationen berücksichtigt. Aber sind die unveränderten Aminosäuren noch zu beurteilen. Für die unveränderten Aminosäure wird die relative Mutierbarkeit berechnet. (siehe Formel 2.1) [9]

$$\text{relative Mutierbarkeit}(i) = \frac{\text{Anzahl der Austausche in dem globalen Alignment}}{\text{Vorkommen in dem globalen Alignment}}$$

Formel 2. 1: relative Mutierbarkeit

i: für jede einzelne Aminosäure

In der folgenden Tabelle 2.1 wird ein Beispiel dargestellt.

Seq 1: ARRCNA

Seq 2: ARCCPA

Aminosäure	A	R	C	N	P
Anzahl der Austausche	0	1	1	1	1
Anzahl der Vorkommen	4	3	3	1	1
Relative Mutierbarkeit	0	0.33	0.33	1	1

Tabelle 2. 1: Berechnung der relativen Mutierbarkeit [9]

Von oben folgt, dass die Aminosäure A hoch konserviert ist. R und C werden ab und zu ausgetauscht. E und F sind sehr oft vorhanden. [9]

Durch die Kombination mit der relativen Mutierbarkeit der Aminosäure und der Matrix aus den ausgezählten Austauschen wird eine Substitutionsmatrix erhalten, die die Mutationsrate von allen Aminosäuren beachtet. „Am Ende wird sie zu einer Übergangswahrscheinlichkeitsmatrix, in der jedes Matrixelement die Wahrscheinlichkeit wiedergibt, dass aus der Aminosäure x die Aminosäure y wird.“ [9]

Kategorien-Modell: Diese von Joe Felsenstein entwickelte Methode lässt die Aminosäure in mehreren Kategorien einteilen, „die letztendlich auf das Kimura-2-Parameter-Modell zurückgehen, also Transitionen und Transversionen unterschiedlich bewerten.“ Unter Transition versteht man den Austausch von einem Purin (A und G) mit einem anderen Purin bzw. einem Pyrimidin (C und T) mit einem anderen Pyrimiden. Unter Transversion versteht man im Gegensatz dazu den Austausch von einem Purin mit einem Pyrimidin bzw. umgekehrt. Bei diesem Modell handelt es sich nur um die Aminosäuresubstitutionen für die Berechnung der Distanzmatrix, die zu einem Kategorienwechsel führt. [8]

Die drei oben dargestellten Modelle sind nutzbar für die Erstellung der Distanzmatrix. Anschließend wird der Baum mit Hilfe der UPGMA und Neighbor-Joining aufgebaut.

„Die Methode, die Distanzen der Cluster mit dem Mittelwert zu berechnen, nennt man **UPGMA** (engl. Unweighted pair-group method using arithmetic averages).“ [10]

2.1.1.1 Neighbor-Joining Methode

„Bei der **Neighbor-Joining-Methode** werden alle Sequenzen an den Ästen des ersten Baumes mit Sterntopologie verteilt. Die Astlängen orientieren sich an den Distanzen. In diesem Baum wird in der Mitte die Wurzel positioniert. Von dieser Wurzel ausgehend wird jetzt der gewurzelte NJ-Baum gebildet, bei dem jeder Ast für sich nach einem speziellen Verfahren gewichtet wird. Gruppen mit eng verwandten Sequenzen bekommen einen kleinen Wert, einzeln stehende Sequenzen mit einer großen Distanz zu allen anderen einen hohen Wert. Die Astlängen ergeben sich aus der Summe der Astlängen von der Wurzel zu der jeweiligen Sequenz, allerdings wird

vor der Addition der Längen durch die Anzahl der Sequenzen dividiert, die sich diesen Ast teilen.“ [10]

2.1.2 Maximum-Parsimony-Methode

Die von W. Fitch entwickelte Maximum-Parsimony-Methode (Methode der größten Sparsamkeit oder Geizigkeit) versucht, einen Baum zu finden, der die wenigsten Mutationen postuliert, als optimal. In der folgenden Abb. 2.1 ist ein Beispiel des Baums mit wenigsten Mutationen. [11]

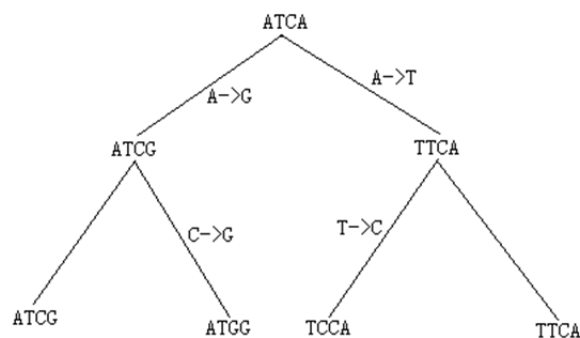


Abbildung 2. 1: Baum mit wenigsten Mutationen [11]

Der Baum in Abb. 2.1 hat vier Mutationen.

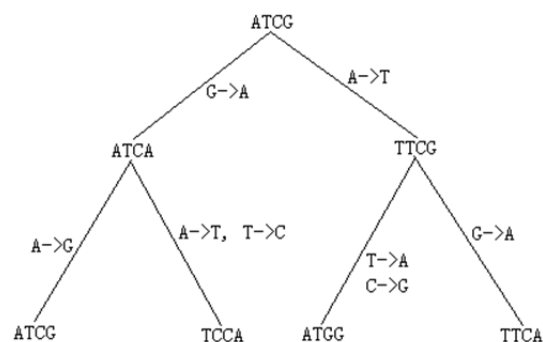


Abbildung 2. 2: Baum mit mehreren Mutationen [11]

Aber erfordert der Baum in Abb. 2.2 sieben Mutationen. Nach der Maximum-Parsimony-Methode ist der erste Baum optimal, weil die Anzahl der Mutationen des ersten Baums weniger als des zweiten sind. In manchen Fällen existiert es mehrere Bäume, die die gleiche kleinstmögliche Zahl von Mutation postulieren. Da liefert das Maximum-Parsimony-Verfahren keine eindeutige Antwort. [11]

2.1.3 Maximum-Likelihood-Methode

Bei der Maximum-Likelihood-Methode wird es nicht nur das Mutationsereignis berücksichtigt, sondern auch der quantitative Wahrscheinlichkeitswert spielt eine Rolle. Die Vorfahren an allen Knoten des untersuchten Stammbaumes werden hier rekonstruiert, „ darüber hinaus wird den Zweigen aber bei der Maximum-Likelihood-Methode auch eine Länge zugeschrieben, die der Wahrscheinlichkeit des postulierten Mutationsereignisses entspricht. Die unterstellten Austauschraten werden für jede mögliche Topologie des Baumes so lange variiert, bis man die Parameter gefunden hat, die mit der größten Wahrscheinlichkeit zur Entstehung der beobachteten Sequenzen führen. “ Der optimale Baum erzeugt mit der größten Wahrscheinlichkeit die beobachteten Daten. [11]

2.2 Mustererkennung

Unter <http://prosite.expasy.org/> ist es möglich, Muster in Proteinen zu finden. In der Abbildung 2.3 wird die Startseite der Prosite gezeigt, da wird die untersuchte Sequenz eingegeben. Das Ergebnis ist in der Abbildung 2.4 zu zeigen. Im oberen Bereich wird die untersuchte Sequenz dargestellt. Im unteren Bereich wird die gefundenen Muster in Protein gezeigt.

Scan a sequence against PROSITE patterns and profiles - quick scan

(Output includes graphical view and feature detection)



Enter your sequence or a UniProtKB (Swiss-Prot or TrEMBL) ID or AC [[help](#)]:

```
EAQITGRPEWIWLAIGTALMGLTLYFLVKGMGVSDPDAK
KFYAITTLVPAIAFTMYLSMLLG YGLTMVPFG
GEQNPIYW
ARYADWLFTTPLL LLDLALVDADQGTILALVGADGIMIG
TGLVGALTQVYSYRFVWVAISTAAMLYILYVL
FFGFTSKA
ESMRPEVASTFKVLRNVTTVLWSAYPVVWLIGSEGAGIVP
```

Sequenz eingeben

☒ exclude patterns with a high probability of occurrence

Abbildung 2. 3: Startseite der Prosite

In der nachstehenden Abbildung 2.4 ist die Sequenz der Kette A von Bacteriorhodopsin zu untersuchen. Bei diesem Beispiel werden zwei Muster in Protein gefunden. Das erste Muster ist die Bacterial rhodopsins signature 1, R - Y - x - [D T] - W - x - [L I V M F] - [S T] - [T V] - P - [L I V M] - [L I V M N Q] - [L I V M] . Dies entspricht der dritten Transmembranenregion (so genannte Helix C),

die einen Argininrest enthält, der für die Freisetzung des Protons von der Schiff-Base nach dem extrazellulären Medium verantwortlich ist. Das zweite ist die Bacterial rhodopsins retinal binding site, [FYIV]-{ND}-[FYVG]-[LIVM]-D-[LIVMF]-x-[STA]-K-x-{K}-[FY]. Bei diesem Muster enthält die Bindungsstelle des Retinals Lysin.



ScanProsite Results Viewer

This view shows ScanProsite results together with ProRule-based predicted intra-domain features ([help](#)).

Hits for all PROSITE (release 20.73) motifs on sequence USERSEQ1 :

found: 2 hits in 1 sequence

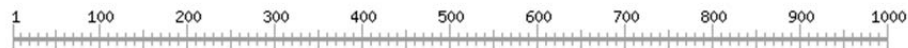
USERSEQ1 (247 aa)

EAQITGRPEWIWALGTALMGLTLYFLVKMGVSDPDAKKFYAITTLVPAIAFTMYLSMLLYGL
TMVPFGGEQNPIYWARYADWLTFTPLLLDLALLVDADQGTILALVGADGIMIGTGLVGALTKVYS
YRFVWWAISTAAMLYILYVLFPGFTSKAESMRPEVASTFKVLRNVTIVLWSAYFVWVLIGSEGAGI
VPLNIETLLFMVLDVSAKVGFGLILLRSRAIFGEAEAPEPSADGAAATS



untersuchte Sequenz

ruler:



hits by patterns: [2 hits (by 2 distinct patterns) on 1 sequence]

USERSEQ1 (247 aa)



PS00950 BACTERIAL_OPSIN_1 Bacterial rhodopsins signature 1 :

82 - 94: RYadWlFTTPLL

PS00327 BACTERIAL_OPSIN_RET Bacterial rhodopsins retinal binding site :

208 - 219: FMVLDVsAKvGF



gefundene Mustern

Legend:



Abbildung 2. 4: Ausgabe der Prosite

2.3 Hydrophobizitätsprofile

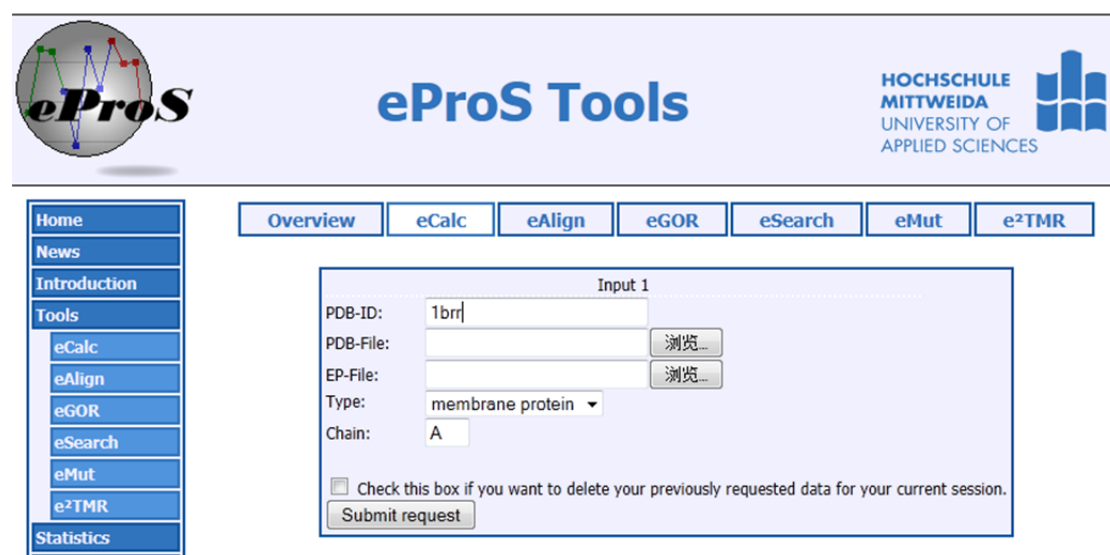
Kyte-Doolittle Hydrophobizitätsprofile bieten die Information über die mögliche Struktur des Proteins an. Daraus könnte man die transmembrane oder oberflächliche Region erkennen (Kyte, Doolittle 1982). [6]

„Mithilfe einer Hydrophobizitätsskala, die jeder Aminosäure einen bestimmten Wert (im Intervall von -4.6 bis 4.6) zuweist, kann man die schwankende Hydrophobizität

entlang einer Proteinsequenz darstellen“. [6] Dies ist die grundlegende Erkenntnis. Je größer die Zahl ist, umso hydrophober ist diese Aminosäure. Je kleiner die Zahl ist, umso hydrophiler ist diese Aminosäure. Um das Hydrophobizitätsprofil zu erhalten, braucht man noch die Fenstergröße wählen. Wenn die oberflächliche Region des globulären Proteins gesucht wird, ist eine Fenstergröße von 9 Aminosäuren besser. Die oberflächliche Region ist identifiziert, als Peaks unter Mittellinie sind. Wenn die transmembrane Region gesucht wird, ist eine Fenstergröße von 19 Aminosäuren nötig. Die transmembrane Region ist identifiziert, als Peaks größer als 1.6 sind. So viel gesprochen, aber was ist die Fenstergröße eigentlich? Unter Fenstergröße versteht man die Anzahl der Aminosäure, deren Hydrophobizitäten sich im Durchschnitt berechnen lassen. Dieser Durchschnittswert wird dann in erster Position des Fensters zugewiesen. Mit gleicher Weise rutscht ProtScale um eine Aminosäure weiter, Schritt für Schritt, bis Ende der Sequenz. Die Durchschnittswerte werden anschließend in einem Graph getragen. [6]

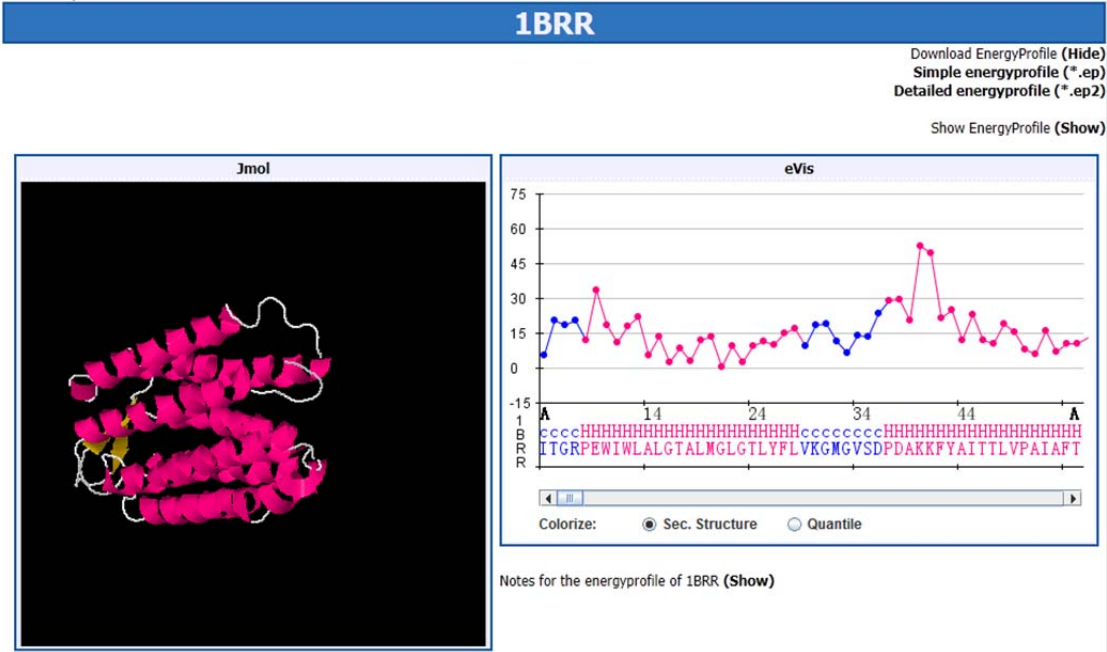
2.4 Energieprofile

Unter <http://bioservices.hs-mittweida.de/Epros/> steht das Tool eCalc zur Verfügung, mit dem Energieprofile des Proteins berechnet werden können. Wie in Abbildung 2.5 gezeigt, werden PDB-ID, Type und Chain (1brr, membrane protein und A entspricht für Bacteriorhodopsin) eingegeben. Das Ergebnis ist in der Abbildung 2.6 dargestellt. In der linken Jmol-Anwendung wird die 3D Struktur des Proteins gezeigt. Im rechten eVis-Fenster wird Energieprofil des Proteins charakterisiert. Rechts oben in EP- oder EP2- Datei werden Energie-Werte der Aminosäure sichtbar gezeigt.



The screenshot shows the eProS Tools web interface. At the top, there is a header with the eProS logo, the text "eProS Tools", and the logo of Hochschule Mittweida University of Applied Sciences. Below the header, there is a navigation menu on the left with links to Home, News, Introduction, Tools, and Statistics. The Tools section is expanded, showing links to eCalc, eAlign, eGOR, eSearch, eMut, and e²TMR. In the center, there is a horizontal menu with buttons for Overview, eCalc, eAlign, eGOR, eSearch, eMut, and e²TMR. The eCalc button is selected. Below this menu, there is a form titled "Input 1" with the following fields: PDB-ID (containing "1brr"), PDB-File (with a "浏览..." button), EP-File (with a "浏览..." button), Type (a dropdown menu set to "membrane protein"), and Chain (containing "A"). At the bottom of the form, there is a checkbox labeled "Check this box if you want to delete your previously requested data for your current session." and a "Submit request" button.

Abbildung 2. 5: Eingabeseite zu Berechnung des Energieprofiles für untersuchtes Protein



3 Ergebnis

3.1 Phylogenetischer Baum mit Phylip

3.1.1 Phylogenetischer Baum mit Distanzmethode

Läufe zur Erzeugung des Baums mit Phylip:

1. Generierung einer Datei in Format .aln(1brr, 1e12, 1u19, 1fqy, 2ksy und 3lrb als Eingabesequenzen). Hier steht die Internetseite <http://www.genome.jp/tools/clustalw/> zur Verfügung. In Tabelle 3.1 ist eine Name Verdeutlichung zu sehen.

Sequenz	Membranprotein
1brr	Bacteriorhodopsin
1e12	Halorhodopsin
2ksy	Sensory Rhodopsin II
1fqy	Human Aquaporin-1
1u19	Bovine Rhodopsin
3lrb	L-arginine/agmatine Antiporter AdiC

Tabelle 3. 1: Name Verdeutlichung

2. Mit dem Programm ClustalX wird die .aln Datei in .phy Datei konvertiert. Weil Phylip nur .phy Datei als Eingabedatei erlaubt ist.
3. Umbenennen der .phy Datei in infile, kopieren sie zu dem Ordner, der alle Programme von Phylip enthält.
4. Mit Protdist wird die Distanzmatrix berechnet. Als Ausgabe wird eine Datei outfile bekommen, die die Eingabedatei für den nächste Schritt ist und in infile umbenannt wird. Natürlich muss die ursprüngliche Datei infile jetzt umbenannt werden.
5. Letztlich öffnet man Neighbor. Zwei Dateien outfile und outtree werden automatisch generiert. In outfile ist der Baum (siehe Abbildung 3.1) skizziert und eine Tabelle mit den Astlängen zwischen den Knoten (siehe Tabelle 3.2) angegeben.

```

+-----3LRB_A|PDB
!
!           +1E12_A|PDB
!   +-----1
!   +-3           +-----1FQY_A|PDB
!   !!
2--4 +2KSY_A|PDB
!   !
!   +-----1U19_A|PDB
!
+-----1BRR_A|PDB

```

Abbildung 3. 1: Baum mit Distanzmethode

Between	And	Length
-----	----	-----
2	3LRB_A PDB	3.01430
2	4	0.42972
4	3	0.30206
3	1	1.46882
1	1E12_A PDB	-0.17572
1	1FQY_A PDB	5.11100
3	2KSY_A PDB	0.01629
4	1U19_A PDB	5.78698
2	1BRR_A PDB	1.21378

Tabelle 3. 2: Astlängen zwischen Knoten mit Distanzmethoden

6. In outtree stecken die Informationen über Astlängen und Spezies im Newick-Format.

```

(3LRB_A|PDB:3.01430,(((1E12_A|PDB:-0.17572,1FQY_A|PDB:5.11100):1.46882,2KSY_A
|PDB:0.01629):0.30206,1U19_A|PDB:5.78698):0.42972,1BRR_A|PDB:1.21378);

```

7. Nach dem Umbenennen outtree in intree und font1 in fontfile ist drawtree geöffnet. Das Ergebnis wie folgend:

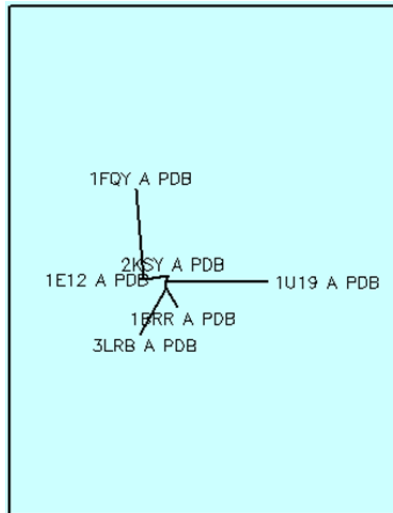


Abbildung 3. 2: Der durch drawtree generierte Baum mit Distanzmethoden

8. Öffnung von drawgram. Das Ergebnis wie folgend:

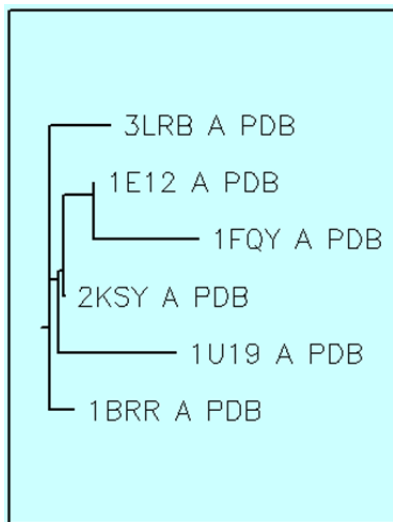


Abbildung 3. 3: Der durch drawgram generierte Baum mit Distanzmethoden

3.1.2 Phylogenetischer Baum mit Parsimonymethoden

Das Programm protpars wird genauso wie protdist bedient. In der Default-Einstellung (ordinary parsimony) wird folgendes Ergebnis in outfile erhalten.

```

+-----1FQY_A|PDB
+--4
! ! +--1U19_A|PDB
+--3 +--5
! ! +--3LRB_A|PDB
+--2 !
! ! +-----2KSY_A|PDB
1 !
! +-----1E12_A|PDB
!
+-----1BRR_A|PDB

```

Abbildung 3. 4: Baum mit Parsimonymethoden

Der Baum aus protpars landet so wie bei protdist in outtree und kann mit drawtree und drawgram formatiert werden. [12] Die Ergebnisse wie folgend:

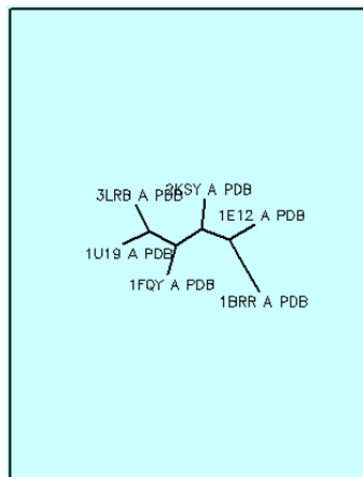


Abbildung 3. 5: Der durch drawtree generierte Baum mit Parsimonymethoden

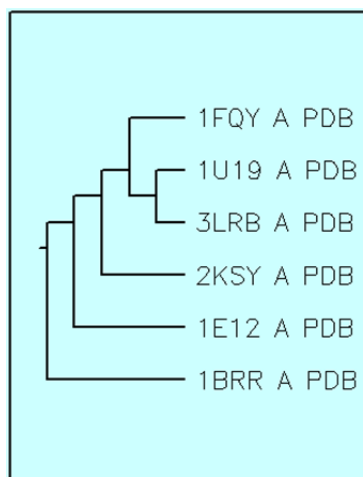


Abbildung 3. 6: Der durch drawgram generierte Baum mit Parsimonymethoden

3.2 Muster

Wie Muster (Hits) in den Membranproteinen gefunden wird, ist es schon im Abschnitt 2.2 vorgestellt. Dort ist ein Beispiel in Bacteriorhodopsin zu erscheinen. Für die resten Membranproteinen, Halorhodopsin, Sensory Rhodopsin II, Human Aquaporin-1, Bovine Rhodopsin und L-arginine/agmatine Antiporter AdiC ist es auch hier mit gleicher Weise machbar, deren Muster zu finden, die in Tabelle 3.3 zusammengefasst werden.

Membran-protein	Length	Specific Detection		
Bacterio-rhodopsin	247aa	PS00950: Bacterial rhodopsins signature 1	PS00327: Bacterial rhodopsins retinal binding site	
		82 - 94:RYaDWlFTTPLL	208 - 219:FMVLDVsAKvGF	
Halo-rhodopsin	253 aa	PS00950: Bacterial rhodopsins signature 1	PS00327: Bacterial rhodopsins retinal binding site	
		87 - 99:RYlTWaLSTPMIL	213 - 224:YSVLDVfAKyVF	
Sensory Rhodopsin II	247 aa	PS00950: Bacterial rhodopsins signature 1	PS00327: Bacterial rhodopsins retinal binding site	
		72 - 84:RYiDWlTTPLIV	197 - 208: IVYLDLvTKvGF	
Human aquaporin-1	269 aa	PS00221: MIP family signature		
		74 - 82:HLNFAVTLG		
Bovine Rhodopsin	349 aa	PS00262: G-protein coupled receptors family 1 profile	PS00237:G-protein coupled receptors family 1 signature	PS00238:Visual pigments (opsins) retinal binding site
		55 - 307: score = 42.880	124 - 140:IALwSLVVLAIERYVvV	291 - 307:IPaFfAKTSAvyNPviY
L-arginine/agmatine Antiporter AdiC	445 aa	no hits		

Tabelle 3. 3: Hits in Membranproteinen

3.3 Hydrophobizitätsanalyse

Unter <http://web.expasy.org/protscale/> kann man das Hydrophobizitätsprofil erhalten. Da wird die untersuchte Sequenz 1brr(A) eingegeben und window size bei 19 eingestellt. Das Ergebnis sieht in der Abbildung 3.7. Peaks, die durch die Entfaltung der Bacteriorhodopsin bekommen werden, werden im Bild gezeigt. Die entsprechenden Hydrophobizitäten werden in Tab. 3.4 dargestellt. Es ist der erste Aminosäure des nachfolgenden Entfaltungsbarrier anzuordnen. Die Linie charakterisiert die möglichen Entfaltungswege. Durch Peaks ist uns einfach erkennen, dass es sich um eine C-Terminusentfaltung handelt. Das Maximum, Minimum und der Durchschnittswert in dem Entfaltungsbarrier ist in der Tabelle 3.4 zu erscheinen.

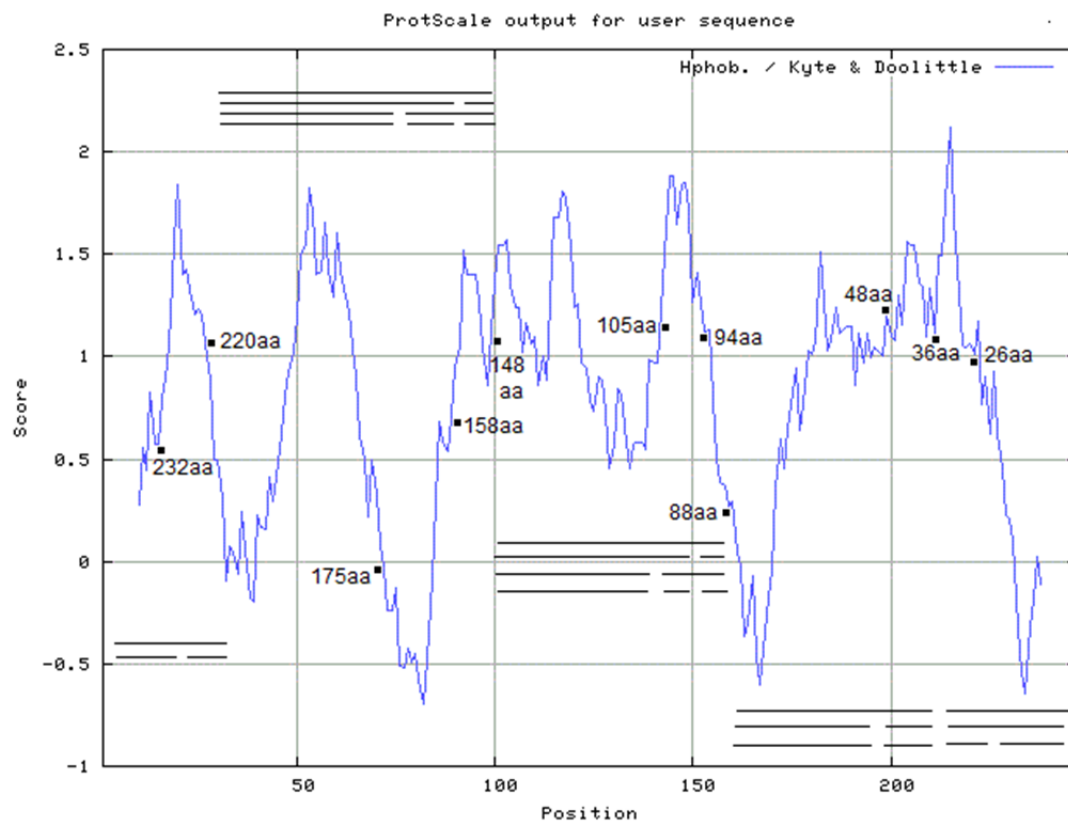


Abbildung 3. 7: Hydrophobizitätsprofil für Bacteriorhodopsin bei window size 19

Peaks in aa	Position	Hydropho- bizität	Positionsbereich in Protein	Max	Min	Durch- schnitt
36	211	1.111	238-212	2.116	-0.647	0.673
88	159	0.268	211-160	1.563	-0.605	0.804
36	211	1.111	238-212	2.116	-0.647	0.673
48	199	1.195	211-200	1.563	1.079	1.294
88	159	0.268	199-160	1.511	-0.605	0.657
26	221	1.011	238-222	1.174	-0.647	0.23
36	211	1.111	221-212	2.116	1.011	1.428
48	199	1.195	211-200	1.563	1.079	1.294
88	159	0.268	199-160	1.511	-0.605	0.657
148	99	1.132	159-100	1.884	0.268	1.102
94	153	1.121	159-154	1.126	0.268	0.575
148	99	1.132	153-100	1.884	0.453	1.161
105	142	1.232	159-143	1.884	0.268	1.224
148	99	1.132	142-100	1.811	0.453	1.054
94	153	1.121	159-154	1.126	0.268	0.575
105	142	1.232	153-143	1.884	1.121	1.578
148	99	1.132	142-100	1.811	0.453	1.054
220	27	1.063	99-28	1.821	-0.695	0.581
158	89	0.705	99-90	1.516	0.858	1.202
220	27	1.063	89-28	1.821	-0.695	0.48
175	72	-0.026	99-73	1.516	-0.695	0.368
220	27	1.063	72-28	1.821	-0.2	0.708
158	89	0.705	99-90	1.516	0.858	1.202
175	72	-0.026	89-73	0.705	-0.695	-0.123
220	27	1.063	72-28	1.821	-0.2	0.708
			27-10	1.842	0.274	1.025
232	15	0.568	27-16	1.842	0.789	1.268
			15-10	0.826	0.274	0.539

Tabelle 3. 4: Hydrophobizität für Bacteriorhodopsin bei window size 19

Mit gleicher Weise wie bei Bacteriorhodopsin gilt auch für andere Membranproteinen. Peaks in allen Abbildungen charakterisieren die Entfaltungen der entsprechenden Membranproteinen. In dieser Stelle ist der erste Aminosäure des nachfolgenden Entfaltungsbarriers anzuordnen. Die Linien in allen Abbildungen beschreiben die Entfaltungswege. In allen Tabellen wird das Maximum, Minimum und der Durchschnittswert in dem Entfaltungsbarrier berechnet.

Die Ergebnisse sind folgend:

In der Abbildung 3.8 und der Tabelle 3.5 entspricht es der Analyse der Halorhodopsins. Durch Peaks ist uns einfach zu erkennen, dass es sich um eine C-Terminusentfaltung handelt.

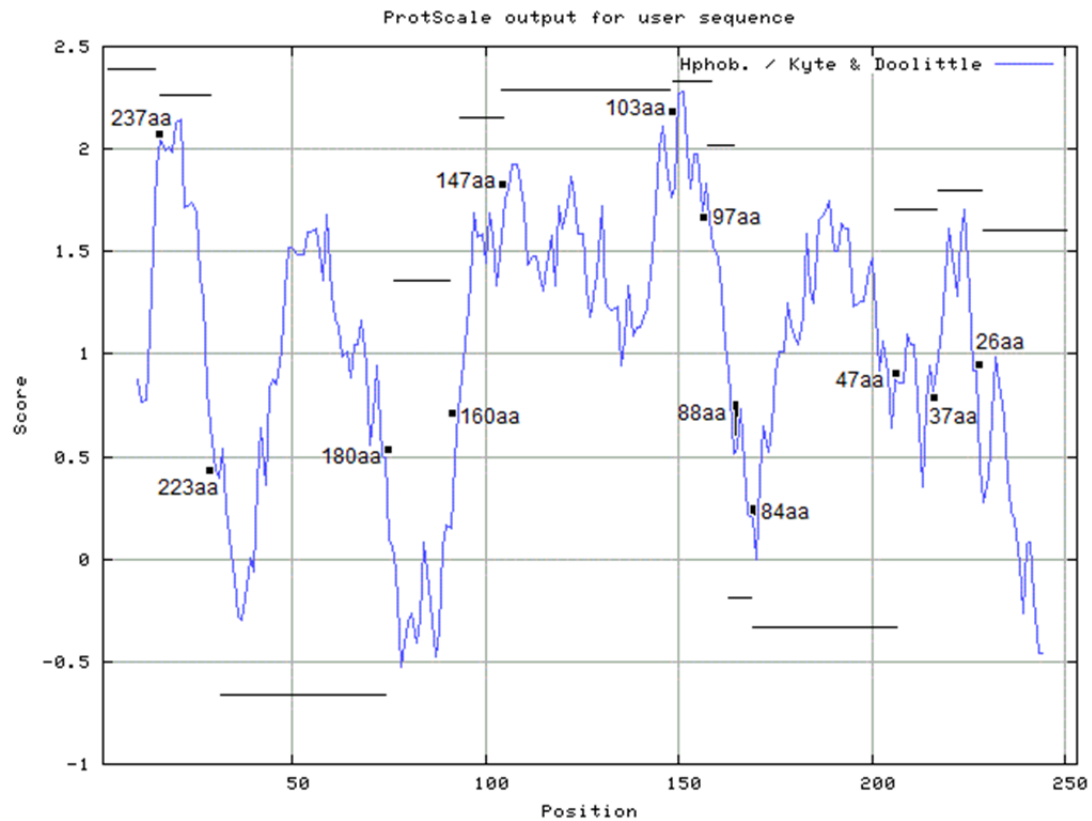


Abbildung 3. 8: Hydrophobizitätsprofil für Halorhodopsin bei window size 19

Peaks in aa	Position	Hydrophobizität	Positionsbereich in Protein	Max	Min	Durchschnitt
26	227	0.916	244-228	0.989	-0.463	0.234
37	216	0.821	227-217	1.705	0.916	1.291
47	206	0.879	216-207	1.100	0.353	0.843
84	169	0.200	206-170	1.747	0.000	1.166
88	165	0.547	169-166	0.737	0.200	0.404
97	156	1.695	165-157	1.832	0.511	1.199
103	150	2.274	156-151	2.284	1.695	1.957
147	106	1.805	150-107	2.274	0.942	1.515
160	93	0.721	106-94	1.805	0.884	1.491
180	73	0.505	93-74	0.721	-0.526	-0.056
223	30	0.432	73-31	1.679	-0.300	0.857
237	16	2.042	30-17	2.147	0.432	1.547
			16-10	2.042	0.763	1.289

Tabelle 3. 5: Hydrophobizität für Halorhodopsin bei window size 19

Human Aquaporin-1 wird in der Abbildung 3.9 und der Tabelle 3.6 analysiert. Durch Peaks ist uns einfach zu erkennen, dass es sich um eine C-Terminusentfaltung handelt.

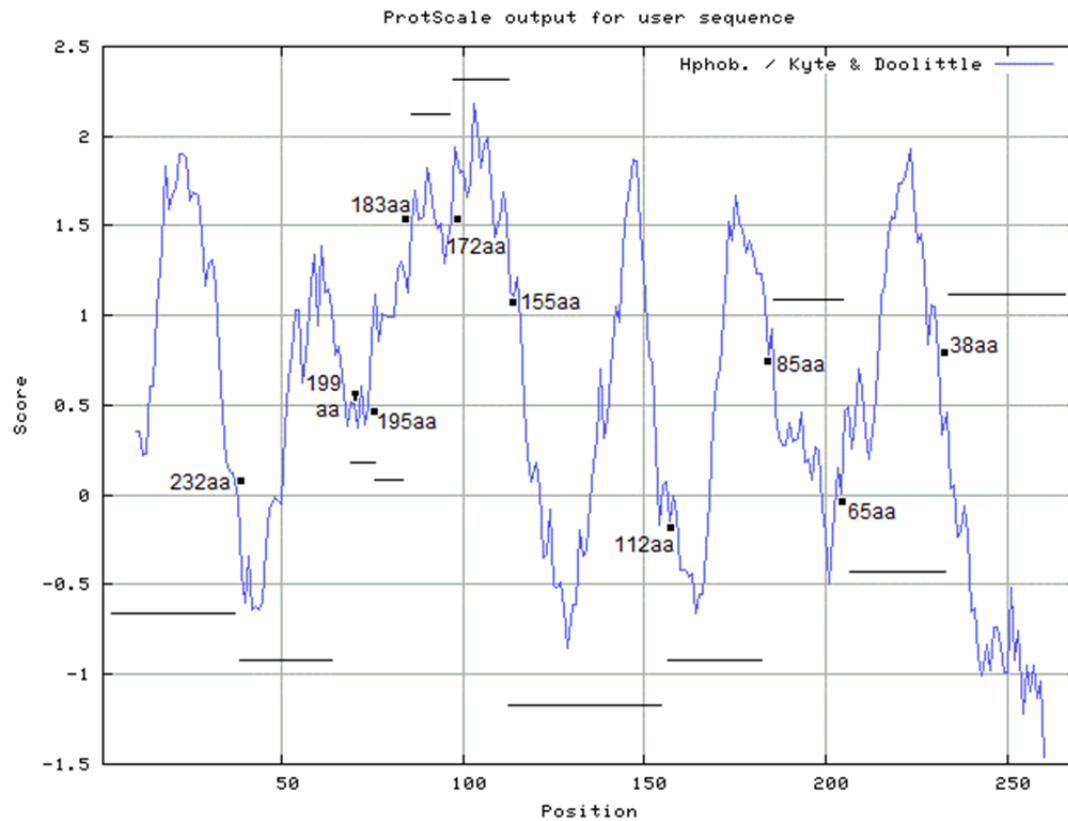


Abbildung 3. 9: Hydrophobizitätsprofil für Human Aquaporin 1 bei window size 19

Peaks in aa	Position	Hydrophobizität	Positionsbereich in Protein	Max	Min	Durchschnitt
38	231	0.768	260-232	0.458	-1.463	-0.661
65	204	0.011	231-205	1.932	0.205	1.041
85	184	0.784	204-185	0.921	-0.500	0.201
112	157	-0.147	184-158	1.674	-0.658	0.555
155	114	1.111	157-115	1.874	-0.853	0.346
172	97	1.532	114-98	2.184	1.111	1.713
183	86	1.516	97-87	1.826	1.289	1.558
195	74	0.495	86-75	1.516	0.858	1.108
199	70	0.505	74-71	0.611	0.374	0.467
232	37	0.121	70-38	1.389	-0.642	0.387
			37-10	1.900	0.121	1.084

Tabelle 3. 6: Hydrophobizität für Human Aquaporin 1 bei window size 19

Die Analyse der Bovine Rhodopsin mit Disulfidbrückenbindung wird in der Abbildung 3.10 und der Tabelle 3.7 charakterisiert. Nachstehend ist die Analyse der Bovine Rhodopsin ohne Disulfidbrückenbindung, die in der Abbildung 3.11 und der Tabelle 3.8 vorgestellt wird. Durch Peaks ist uns einfach zu erkennen, dass es sich für die beiden Abbildungen (Abb. 3.10 und 3.11) um eine N-Terminusentfaltung handelt.

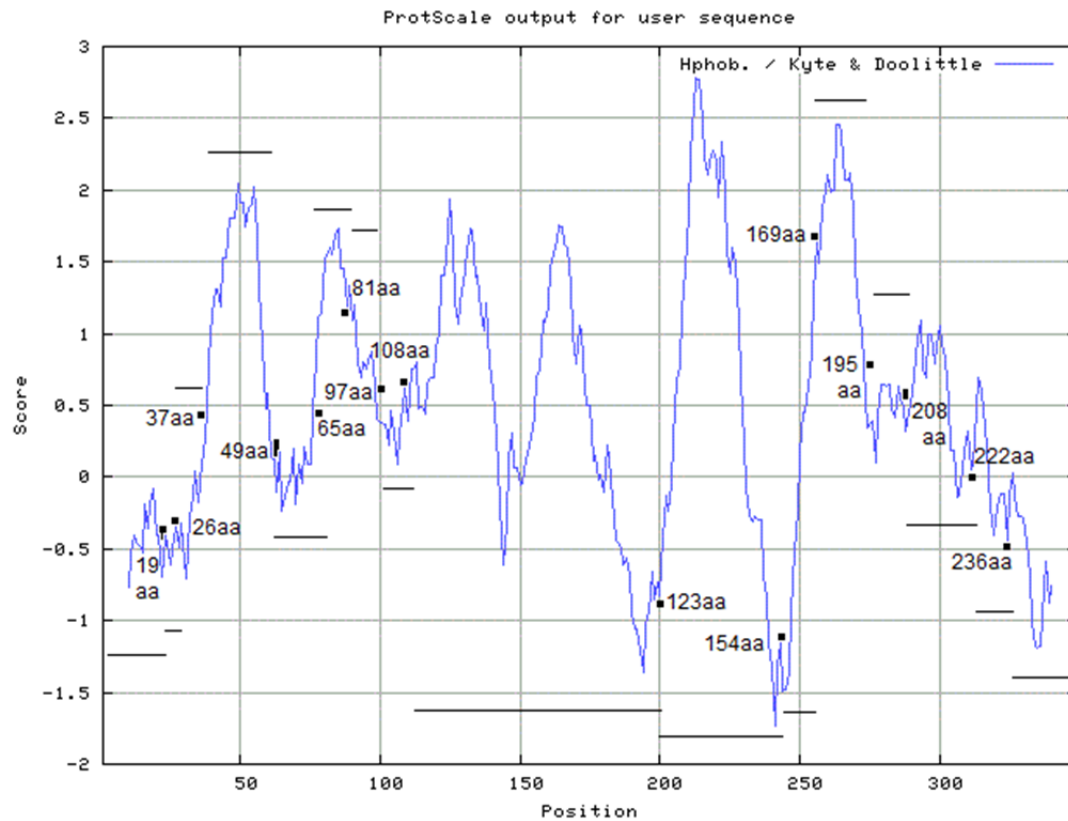


Abbildung 3. 10: Hydrophobizitätsprofil für Bovine Rhodopsin mit Disulfidbrückenbindung bei window size 19

Peaks in aa	Position	Hydrophobizität	Positionsbereich in Protein	Max	Min	Durchschnitt
19	20	-0.405	10-19	-0.074	-0.768	-0.393
26	27	-0.347	20-26	-0.405	-0.695	-0.498
37	38	0.447	27-37	0.163	-0.711	-0.249
49	61	0.142	38-60	2.047	0.447	1.439
65	76	0.458	61-75	0.216	-0.242	0.023
81	88	1.184	76-87	1.726	0.458	1.338
97	98	0.632	88-97	1.332	0.689	0.955
108	109	0.626	98-108	0.632	0.089	0.367
123	200	-0.826	109-199	1.942	-1.358	0.501
154	243	-1.158	200-242	2.784	-1.732	0.795
169	256	1.632	243-255	1.295	-1.489	-0.253
195	273	0.768	256-272	2.458	1.011	1.891
208	286	0.542	273-285	0.768	0.105	0.499
222	311	0.058	286-310	1.089	-0.142	0.573
236	324	-0.447	311-323	0.689	-0.400	0.090
			324-340	0.026	-1.195	-0.600

Tabelle 3. 7: Hydrophobizität für Bovine Rhodopsin mit Disulfidbrückenbindung bei window size 19

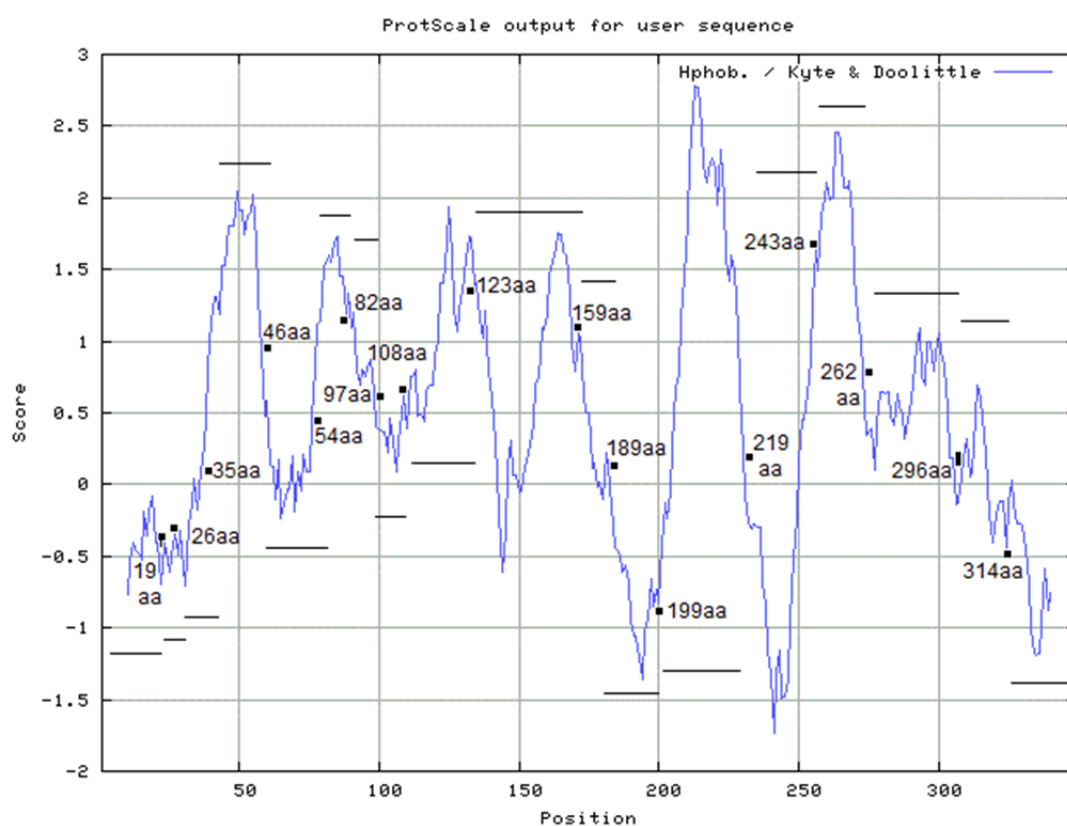


Abbildung 3. 11: Hydrophobizitätsprofil für Bovine Rhodopsin ohne Disulfidbrückenbindung bei window size 19

Peaks in aa	Position	Hydrophobizität	Positionsbereich in Protein	Max	Min	Durchschnitt
19	20	-0.405	10-19	-0.074	-0.768	-0.393
26	27	-0.347	20-26	-0.405	-0.695	-0.498
35	36	0.111	27-35	0.042	-0.711	-0.335
46	58	0.921	36-57	2.047	0.111	1.427
54	76	0.458	58-75	0.921	-0.242	0.130
82	88	1.184	76-87	1.726	0.458	1.338
97	98	0.632	88-97	1.332	0.689	0.955
108	109	0.626	98-108	0.632	0.089	0.367
123	134	1.395	109-133	1.942	0.389	1.069
159	171	1.058	134-170	1.758	-0.611	0.753
189	182	0.121	171-181	1.058	-0.100	0.370
199	200	-0.826	182-199	0.121	-1.358	-0.728
219	230	0.247	200-229	2.784	-0.826	1.417
243	256	1.632	230-255	1.295	-1.732	-0.447
262	273	0.768	256-272	2.458	1.011	1.891
296	309	0.189	273-308	1.089	-0.142	0.564
314	324	-0.447	309-323	0.689	-0.400	0.112
			324-340	0.026	-1.195	-0.600

Tabelle 3. 8: Hydrophobizität für Bovine Rhodopsin ohne Disulfidbrückenbindung bei window size 19

Letztlich ist die Analyse für den L-arginine/agmatine Antiporter AdiC. In der Abbildung 3.12 und der Tabelle 3.9 ist die Analyse des L-arginine/agmatine Antiporters AdiC bei N-Terminusentfaltung. In der Abbildung 3.13 und der Tabelle 3.10 ist dann die Analyse des L-arginine/agmatine Antiporters AdiC bei C-Terminusentfaltung. In diesen beiden Abbildungen sind die Spalte Peaks in aa bei Experiment eingefügt, weil die Probe bei Entfaltung des L-arginine/agmatine Antiporters AdiC die rekombinanten Zielproteinen (N-His6-AdiC und AdiC-His6-C) ist.

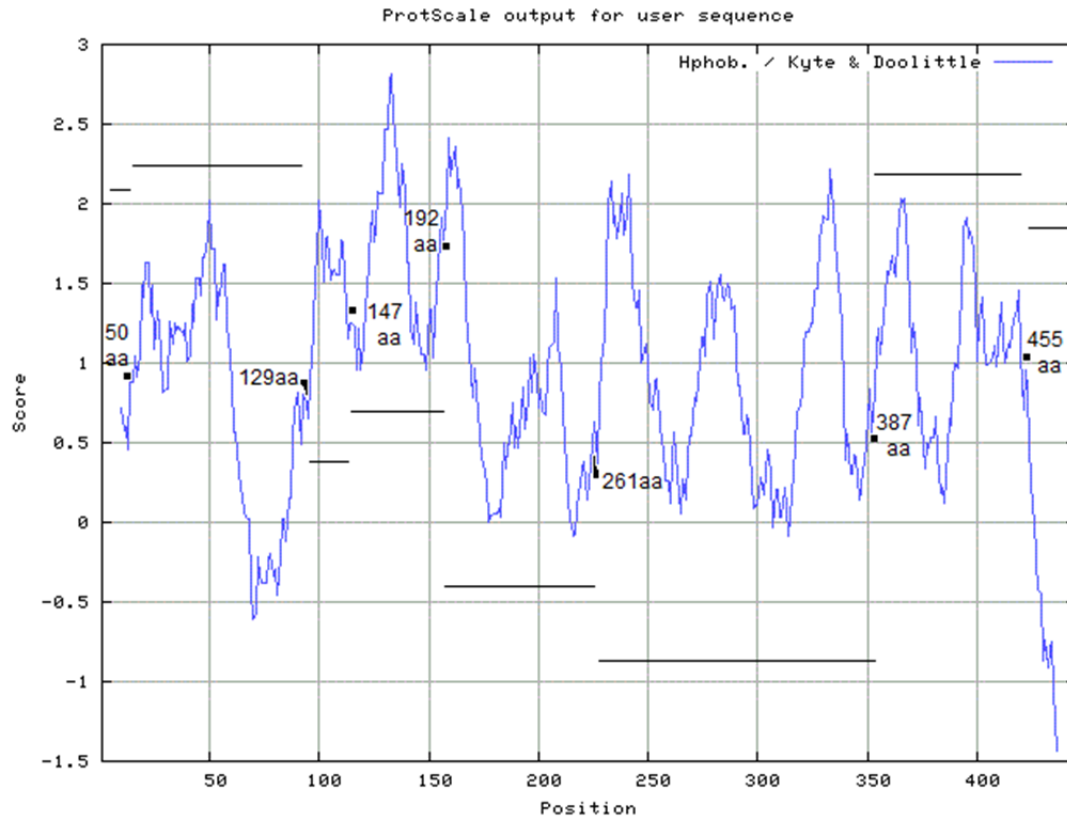


Abbildung 3. 12: Hydrophobizitätsprofil für AdiC bei N-Terminus Entfaltung bei window size 19

Peaks in aa bei Experiment	Peaks in aa bei Protein	Position	Hydrophobizität	Positions-bereich in Protein	Max	Min	Durchschnitt
50	14	15	0.884	10-14	0.879	0.458	0.647
129	93	94	0.753	15-93	2.021	-0.605	0.777
147	111	112	1.332	94-111	2.026	0.653	1.496
192	156	157	1.774	112-156	2.811	0.953	1.626
261	225	226	0.500	157-225	2.416	-0.084	0.788
387	351	352	0.568	226-351	2.221	-0.089	0.917
455	419	420	1.047	352-419	2.032	0.116	1.124
				420-436	1.047	-1.437	-0.208

Tabelle 3. 9: Hydrophobizität für AdiC bei N-Terminus Entfaltung bei window size 19

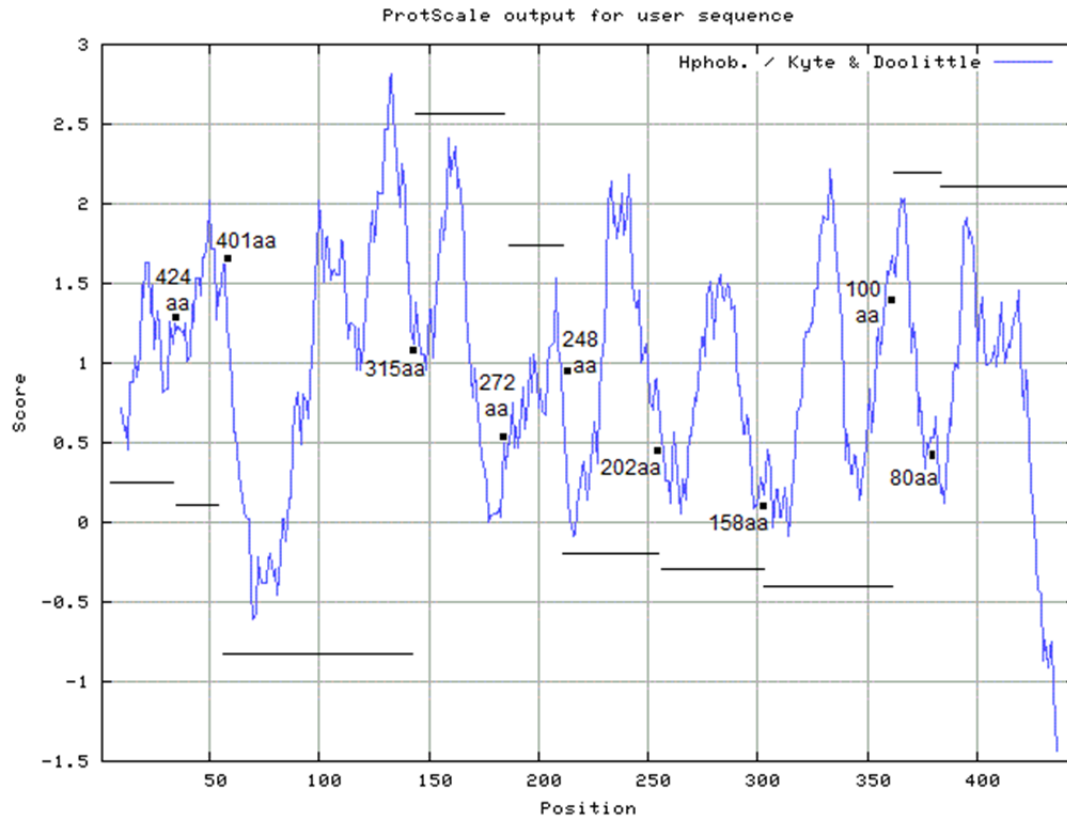


Abbildung 3. 13: Hydrophobizitätsprofil für AdiC bei C-Terminus Entfaltung bei window size 19

Peaks in aa bei Experiment	Peaks in aa von N-Terminus	Peaks in aa bei Protein	Position	Hydrophobizität	Positions-bereich in Protein	Max	Min	Durchschnitt
80	381	378	378	0.463	436-379	1.916	-1.437	0.689
100	361	358	358	1.426	378-359	2.032	0.332	1.273
158	303	300	300	0.111	358-301	2.221	-0.089	0.818
202	259	256	256	0.484	300-257	1.553	0.053	0.783
248	213	210	210	0.963	256-211	2.184	-0.084	0.980
272	189	186	186	0.484	210-187	1.537	0.463	0.846
315	146	143	143	1.116	186-144	2.416	-0.005	1.098
401	60	57	57	1.616	143-58	2.811	-0.605	1.018
424	37	34	34	1.253	57-35	2.021	1.016	1.443
					34-10	1.632	0.458	1.076

Tabelle 3. 10: Hydrophobizität für AdiC bei C-Terminus Entfaltung bei window size 19

3.4 Energieanalyse

Im Abschnitt 2.4 sind schon vorgestellt, wie man Energie-Werte erhalten kann.

Das Maximum, Minimum und der Durchschnittswert der Energie in dem Entfaltungsbereich der Bacteriorhodopsin ist in der Tabelle 3.11 zu sehen.

Positionsbereich in Protein	Max	Min	Durchschnitt
232-212	27.495	0.000	13.586
211-160	34.347	1.544	14.735
232-212	27.495	0.000	13.586
211-200	18.806	10.695	15.526
199-160	34.347	1.544	14.498
232-222	23.753	0.000	15.600
221-212	27.495	1.410	11.370
211-200	18.806	10.695	15.526
199-160	34.347	1.544	14.498
159-100	40.084	0.147	14.388
159-154	40.084	7.022	21.208
153-100	30.152	0.147	13.630
159-143	40.084	2.860	16.363
142-100	30.152	0.147	13.607
159-154	40.084	7.022	21.208
153-143	25.671	2.860	13.721
142-100	30.152	0.147	13.607
99-28	52.61	3.179	16.914
99-90	25.308	9.813	18.759
89-28	52.61	3.179	16.617
99-73	27.613	4.592	16.407
72-28	52.61	3.179	17.219
99-90	25.308	9.813	18.759
89-73	27.613	4.592	15.023
72-28	52.61	3.179	17.219
27-4	33.596	0.977	12.622
27-16	15.133	0.977	8.407
15-4	33.596	5.599	16.838

Tabelle 3. 11: Energieanalyse der Bacteriorhodopsin

Mit gleicher Methode wie Bacteriorhodopsin wird das Maximum, Minimum und der Durchschnittswert der Energie in dem Entfaltungsbereich der Halorhodopsin(1e12) erhalten, Dies zeigt in der Tabelle 3.12. Weil die Position sich in eProS und in Protscale nicht zueinander passen, verschiebt man hier die Position, damit die

Position in eProS und in Protscale miteinander zusammenpassen. In Tabelle 3.12 werden die richtigen Parameter in der Spalte Positionsbereich in Protein gezeigt.

In eCalc/ PDBsum	Positionsbereich in Protein	Max	Min	Durchschnitt
261-249	240-228	35.505	15.407	21.255
248-238	227-217	22.641	8.330	13.793
237-228	216-207	17.550	3.098	9.957
227-191	206-170	27.131	3.603	14.836
190-187	169-166	20.914	11.103	15.049
186-178	165-157	24.431	8.971	16.751
177-172	156-151	18.353	5.273	11.813
171-128	150-107	25.891	-0.647	10.509
127-115	106-94	26.243	4.010	15.271
114-95	93-74	30.937	3.845	16.658
94-52	73-31	35.895	0.462	15.199
51-38	30-17	16.615	1.515	9.730
37-25	16-4	22.414	2.166	12.508

Tabelle 3. 12: Energieanalyse der Halorhodopsin

Gleichfalls wie Bacteriorhodopsin wird das Maximum, Minimum und der Durchschnittswert der Energie in dem Entfaltungsbarrier der Human Aquaporin 1(1fqy) charakterisiert. Dies wird in nachstehender Tabelle 3.13 vorgestellt.

Positionsbereich in Protein	Max	Min	Durchschnitt
232	2.479	2.479	2.479
231-205	15.889	-0.691	9.548
204-185	23.304	-1.611	10.059
184-158	21.349	-0.490	10.412
157-115	37.456	2.005	14.134
114-98	20.906	0.379	9.717
97-87	18.781	2.812	10.775
86-75	19.933	2.308	12.171
74-71	11.830	6.539	9.528
70-38	25.204	1.261	11.807
37-9	24.732	1.094	10.697

Tabelle 3. 13: Energieanalyse der Human Aquaporin 1

In Tabelle 3.14 wird das Maximum, Minimum und der Durchschnittswert der Energie in dem Entfaltungsbarrier der Bovine Rhodopsin(1u19) unter Anwesenheit der Disulfidbrückenbindung dargestellt. In Tabelle 3.15 werden diese Werte unter Abwesenheit der Disulfidbrückenbindung charakterisiert.

Positionsbereich in Protein	Max	Min	Durchschnitt
3-19	28.282	5.780	17.809
20-26	34.056	9.832	21.245
27-37	49.157	11.976	21.712
38-60	23.306	0.000	10.210
61-75	39.400	11.163	22.853
76-87	22.920	7.161	16.021
88-97	17.521	-1.425	9.452
98-108	28.947	0.000	14.047
109-199	46.385	-1.315	14.252
200-242	35.630	0.875	14.084
243-255	62.788	13.988	29.478
256-272	18.742	0.160	11.041
273-285	30.167	5.617	14.301
286-310	34.970	0.000	9.399
311-323	42.466	0.000	21.837
324-349	36.453	0.000	16.424

Tabelle 3. 14: Energieanalyse der Bovine Rhodopsin mit Disulfidbrückenbindung

Positionsbereich in Protein	Max	Min	Durchschnitt
3-19	28.282	5.780	17.809
20-26	34.056	9.832	21.245
27-35	49.157	12.682	22.145
36-57	27.554	0.000	10.053
58-75	39.400	11.163	21.998
76-87	22.920	7.161	16.021
88-97	17.521	-1.425	9.452
98-108	28.947	0.000	14.047
109-133	22.996	-1.315	11.543
134-170	26.857	1.931	12.079
171-181	38.431	4.637	15.843
182-199	46.385	6.192	21.508
200-229	23.637	0.875	11.796
230-255	62.788	10.790	24.421
256-272	18.742	0.160	11.041
273-308	34.970	0.000	11.692
309-323	42.466	0.000	18.925
324-349	36.453	0.000	16.424

Tabelle 3. 15: Energieanalyse der Bovine Rhodopsin ohne Disulfidbrückenbindung

Am Ende ist die Analyse zu L-arginine/agmatine Antiporter AdiC. In Tabelle 3.16 wird das Maximum, Minimum und der Durchschnittswert der Energie in dem Entfaltungsbarrier der L-arginine/agmatine Antiporter AdiC (3lrb) bei

N-Terminusentfaltung dargestellt. In Tabelle 3.17 werden diese Werte bei C-Terminusentfaltung dargestellt.

Positions-bereich in Protein	Max	Min	Durchschnitt
7-14	39.324	8.795	20.741
15-93	47.075	-4.456	17.918
94-111	19.134	-0.043	11.984
112-156	41.939	3.885	16.312
157-225	34.168	0.181	14.946
226-252	27.587	0.000	10.742
273-351	44.006	-6.019	13.905
352-419	30.953	1.122	14.271
420-435	34.966	0.000	18.065

Tabelle 3. 16: Energieanalyse der AdiC bei N-Terminusentfaltung

Positions-bereich in Protein	Max	Min	Durchschnitt
435-379	34.966	0.000	14.623
378-359	26.823	6.557	18.098
358-301	38.463	1.122	15.581
300-273	44.006	-6.019	9.244
252-211	34.168	0.000	16.246
210-187	22.066	2.307	11.978
186-144	41.939	0.181	13.615
143-58	47.075	-0.043	18.780
57-35	21.538	0.492	12.386
34-7	39.324	-4.456	14.188

Tabelle 3. 17: Energieanalyse der AdiC bei C-Terminusentfaltung

4 Diskussion

4.1 Phylogenetischer Baum

In der Abbildung 4.1 ist ein skalierter Baum mit Distanzmethoden dargestellt. Die Zahl charakterisiert die Astlänge zwischen jeder Spezies und ihrem vorherigen Knoten. In diesem Baum werden zwei Gruppe als monophyletische Spezies gefunden, die jeweils 1brr und 3lrb sowie 1e12 und 1fqy sind. Der durch Maximum Parsimony-Methode generierte Baum ist anders zu formulieren, dass die Spezies 1u19 und 3lrb monophyletisch sind (siehe Abbildung 3.6). Daraus schließt man, mit verschiedenen Methoden unterschiedliche Bäume generieren zu können.

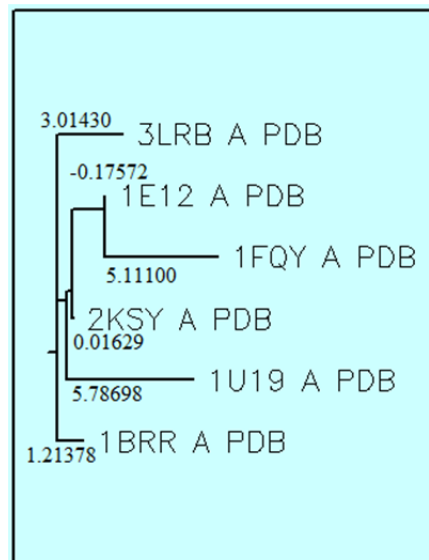


Abbildung 4. 1: Der durch drawgram generierte Baum mit Distanzmethoden

4.2 Muster

In Tabelle 3.3 werden alle Hits in Membranproteinen zusammengefasst.

Es ist einfach zu erkennen, dass die Membranproteinen Bacteriorhodopsin, Halorhodopsin und Sensory Rhodopsin II die zwei gleichen Patterns haben, die jeweils als „Bacterial rhodopsins signature 1“ und „Bacterial rhodopsins retinal binding site“ gekennzeichnet werden. Bacterial rhodopsins signature 1 entspricht der dritten Transmembranenregion (so genannte Helix C), bei der einen Argininrest enthält, der für die Freisetzung des Protons von der Schiff-Base nach dem extrazellulären Medium verantwortlich ist. In Bacterial rhodopsins retinal binding site bindet das Retinal Chromophore an Lysinrest durch kovalente Schiff-Base. Die drei Membranproteinen gehören zu der Familien der bakteriellen Rhodopsin, in der das

Retinal enthält und die in extrem halophilen Bakterien gefunden wird. Diese Proteinen sorgen für den lichtabhängigen Ionentransport und die sensorischen Funktionen in diesem Organismus. [13]

In Membranprotein Human Aquaporin-1 ist das Pattern „MIP family signature“ zu finden. Mammalian major intrinsic protein MIP ist die Hauptkomponente der Linsenfasern Gap Junctions. Gap junctions vermitteln den direkten Austausch von Ionen und kleinen Molekülen von einer Zelle zur anderen. Dieses Pattern wird wahrscheinlich in der zytoplasmischen Loop zwischen der zweiten und dritten Transmembranregion lokalisiert. [14]

In Membranprotein Bovine Rhodopsin sind die Patterns „G-protein coupled receptors family 1 signature“ und „Visual pigments (opsins) retinal binding site“ sowie die Matrix „G-protein coupled receptors family 1 profile“ zu finden. G-Protein-gekoppelte Rezeptoren (auch als R7G) sind eine umfangreiche Gruppe von Hormonen, Neurotransmittern, Geruchs- und Licht-Rezeptoren, die die extrazellulären Signale durch Interaktion mit den Guanin-Nukleotid-bindenden (G) Proteinen transduzieren. Die konservierten Teile dieser Proteine sind die Transmembran-Regionen und die ersten beiden zytoplasmischen Schleifen. Ein konserviertes saure-Arg-aromatisches Triplet „G-protein coupled receptors family 1 signature“ ist in der N-terminalen Ende des zweiten zytoplasmischen Schleife und könnte in der Interaktion mit G-Proteinen beteiligt sein. Außerdem ist ein Profil „G-protein coupled receptors family 1 profile“ zu finden, das sich in sieben Transmembranregionen erstreckt. Visuelle Pigmente sind die lichtabsorbierenden Moleküle, die die Vision zu vermitteln. Visuelle Pigmente haben ein Apoprotein, Opsin, der kovalent an das Chromophor Retinal verbunden ist. Vision ist durch die Absorption eines Photons erfolgt. Dazwischen wird cis-retinal zu trans-retinal isomerisiert. Diese Isomerisierung führt zu einer Veränderung der Konformation des Proteins. Die Anheftungsstelle ist ein konserviertes Lysin, das sich in der Mitte des siebten Transmembran-Helix befindet. Im Pattern „Visual pigments (opsins) retinal binding site“ ist dieses Lysin zu enthalten. [15]

In Membranprotein L-arginine/agmatine Antiporter AdiC sind keine Hits zu finden. Die regulären Ausdrücke der gefundenen Muster werden in Tabelle 4.1 zusammengefasst.

ID	Signature	Name	Reguläre Ausdrücke
PS00950	Pattern	Bacterial rhodopsins signature 1	R - Y - x - [D T] - W - x - [L I V M F] - [S T] - [T V] - P - [L I V M] - [L I V M N Q] - [L I V M]
PS00327	Pattern	Bacterial rhodopsins retinal binding site	[F Y I V] - { N D } - [F Y V G] - [L I V M] - D - [L I V M F] - x - [S T A] - K - x - { K } - [F Y]
PS00221	Pattern	MIP family signature	[HNQA]-{D}-N-P-[STA]-[LIVMF]-[ST]-[LIVMF]-[GSTAFY]
PS00237	Pattern	G-protein coupled receptors family 1 signature	[GSTALIVMFYWC]-[GSTANCPDE]-{EDPKRH}-x-{PQ}-[LIVMNQGA]-{RK}-{RK}-[LIVMFT]-[GSTANC]-[LIVMFYWSTAC]-[DENH]-R-[FYWCSH]-{PE}-x-[LIVM]
PS50262	Matrix	G-protein coupled receptors family 1 profile	Disulfidbrückenbindung
PS00238	Pattern	Visual pigments (opsins) retinal binding site	[LIVFWAC]-[PSGAC]-x-{G}-x-[SAC]-K-[STALIMR]-[GSA CPNV]-[STACP]-x(2)-[DENF]-[AP]-x(2)-[IY]

Tabelle 4. 1: gefundene Muster in Membranprotein

4.3 Zusammenhang zwischen Hydrophobizitätsprofile und Energieprofile

Das Ziel dieses Abschnittes ist, eine Beziehung zwischen den Hydrophobizitätsprofilen und den Energieprofilen der einzelnen Membranproteinen zu finden. Damit kann man ohne SMFS-Experiment die Entfaltung der einzelnen Membranproteinen grob abschätzen.

4.3.1 Analyse der Bacteriorhodopsin

Nach den Tabellen 3.4 und 3.11 sind folgende Abbildungen 4.2 und 4.3 erzeugt. Daran werden die hellgrünen Linien beider Abbildungen beobachtet. Diese Linien charakterisieren jeweils den Durchschnittswert der Hydrophobizitäten (Abb. 4.2) und der Energie (Abb. 4.3) in Entfaltungsbarrieren der Bacteriorhodopsin. Sie laufen sich unregelmäßig in der x-Richtung. Die blauen und roten Linien dieser beiden Abbildungen stellen jeweils das Maximum und das Minimum der Hydrophobizitäten (Abb. 4.2) und der Energie (Abb. 4.3) in Entfaltungsbarrieren der Bacteriorhodopsin dar. In Tabelle 4.2 ist eine Positionsanalyse vorgestellt. Zahlbereich in Klammern entspricht der Energieanalyse und umgekehrt der Hydrophobizitätsanalyse. Dort werden die Positionen, in der es das Maximum und das Minimum des Entfaltungsbarriers jeweils in den Hydrophobizitätsprofilen und Energieprofilen gibt, verglichen. Diese sind auch unregelmäßig. Daraus folgt, dass es keine Aussage gibt,

die die Beziehung zwischen den Hydrophobizitätsprofilen und den Energieprofilen der Bacteriorhodopsin beschreibt.

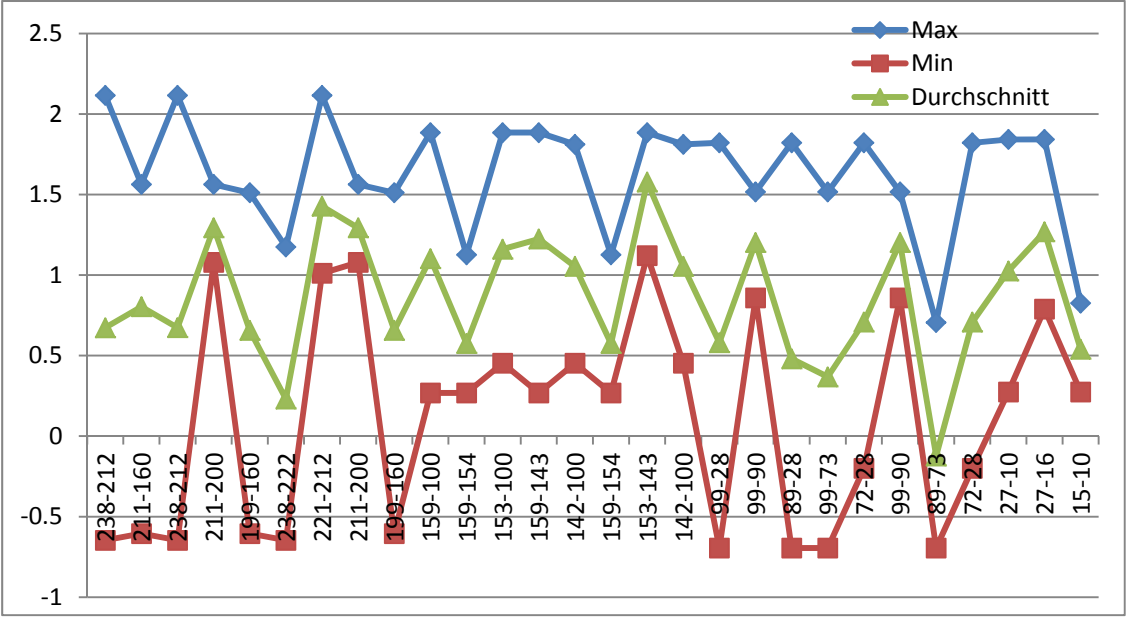


Abbildung 4. 2: Hydrophobizität bei Window Size 19

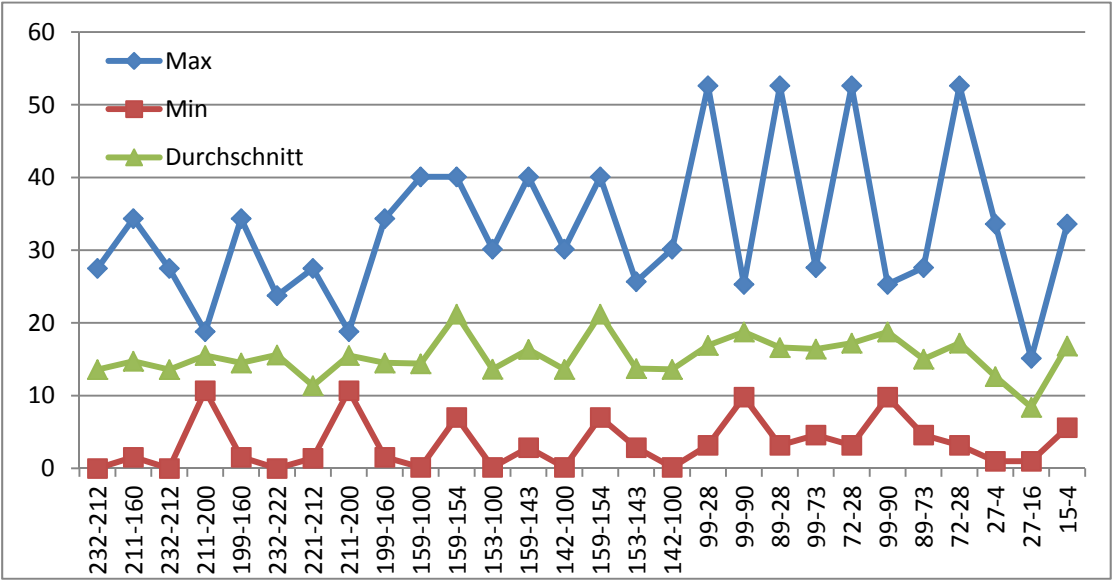


Abbildung 4. 3: Energieprofile der Bacteriorhodopsin

Positionsbereich in Protein	Position mit Max in Hydro.	Position mit Max in Energ.	Position mit Min in Hydro.	Position mit Min in Energ.
238-212(232-212)	215	216	234	232
211-160	204	172	167	192
238-212(232-212)	215	216	234	232
211-200	204	211	201	210
199-160	182	172	167	192
238-222(232-222)	222	227	234	232
221-212	215	216	221	218
211-200	204	211	201	210
199-160	182	172	167	192
159-100	144/145	159	159	116
159-154	154	159	159	154
153-100	144/145	106	129	116
159-143	144/145	159	159	143
142-100	117	106	129	116
159-154	154	159	159	154
153-143	144/145	152	153	143
142-100	117	106	129	116
99-28	53	40	82	63
99-90	92	94	98	91
89-28	53	40	82	63
99-73	92	76	82	73
72-28	53	40	39	63
99-90	92	94	98	91
89-73	89	76	82	73
72-28	53	40	39	63
27-10(27-4)	20	9	10	21
27-16	20	27	16	21
15-10(15-4)	13	9	10	14

Tabelle 4. 2: Positionsanalyse der Bacteriorhodopsin

4.3.2 Analyse der Halorhodopsin

Mit der gleichen Methode wie Bacteriorhodopsin werden andere Membranproteinen analysiert. Die hellgrünen Linien aller nachstehenden Abbildungen werden beachtet. Sie charakterisieren jeweils den Durchschnittswert der Hydrophobizitäten und der Energie in Entfaltungsbarrieren der Membranproteinen. Die blauen und roten Linien aller nachstehenden Abbildungen stellen jeweils das Maximum und das Minimum der Hydrophobizitäten und der Energie in Entfaltungsbarrieren der Membranproteinen dar. In aller nachstehenden Tabellen ist eine Positionsanalyse vorzustellen. Zahlbereich in Klammern entspricht der Energieanalyse und umgekehrt der Hydrophobizitätsanalyse. Dort werden die Positionen, in der es das Maximum und das Minimum des

Entfaltungsbarrieren jeweils in den Hydrophobizitätsprofilen und Energieprofilen gibt, verglichen. Durch die Durchschnittsanalyse und die Positionsanalyse versucht man, die Beziehung zwischen Hydrophobizität und Energie zu formulieren, damit ohne SMFS-Experiment die Entfaltung der Membranproteinen auch vorhergesagt werden kann.

Nach den Tabellen 3.5 und 3.12 sind folgende Abbildungen 4.4 und 4.5 erzeugt. Sie entspricht der Analyse des Halorhodopsins. Die hellgrünen Linien dieser beiden Abbildungen sind nicht proportional aufeinander. Durch die Positionsanalyse (Tabelle 4.3) kann auch keine Aussage gefunden werden. Daraus folgt, dass es keine Aussage gibt, die die Beziehung zwischen den Hydrophobizitätsprofilen und den Energieprofilen des Halorhodopsins beschreibt.

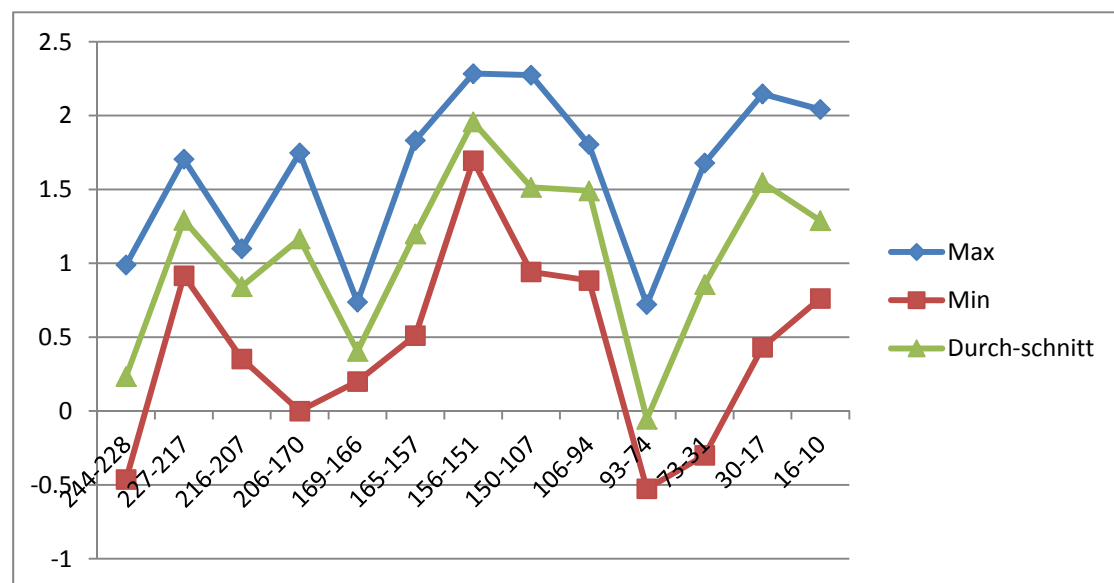


Abbildung 4. 4: Hydrophobizität bei window size 19

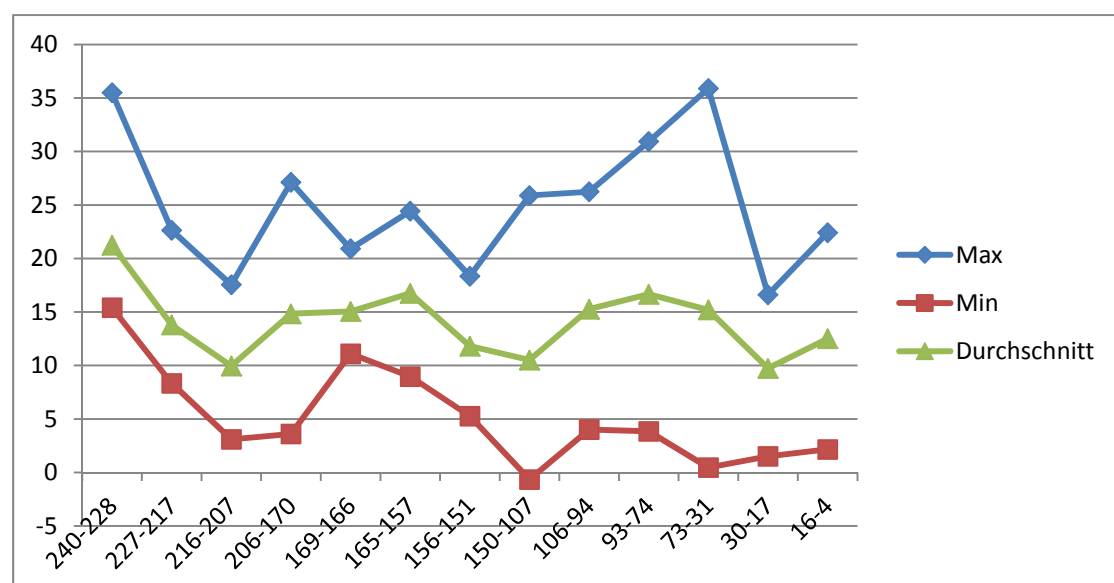


Abbildung 4. 5: Energieanalyse der Halorhodopsin

Positionsbereich in Protein	Position mit Max in Hydro.	Position mit Max in Energ.	Position mit Min in Hydro.	Position mit Min in Energ.
244-228(240-228)	232	236	243/244	231
227-217	224	221	226/227	223
216-207	209	207	213	212
206-170	189	171	170	196
169-166	166	166	169	168
165-157	157	162	164	157
156-151	151	155	156	156
150-107	150	107	135	122
106-94	106	102	94	94
93-74	93	82	78	86
73-31	59	39	37	58
30-17	21	23	30	20
16-10(16-4)	16	4	11	11

Tabelle 4. 3: Positionsanalyse der Halorhodopsin

4.3.3 Analyse der Human Aquaporin-1

Nach den Tabellen 3.6 und 3.13 sind folgende Abbildungen 4.6 und 4.7 erzeugt. Diese gilt für die Analyse des Human Aquaporin-1. Aus der hellgrünen Linien beider Abbildungen und der Positionsanalyse (Tabelle 4.4) jeweils kann man keine Beziehung finden. Daraus folgt, dass es keine Aussage gibt, die die Beziehung zwischen den Hydrophobizitätsprofilen und den Energieprofilen der Human Aquaporin-1 beschreibt.

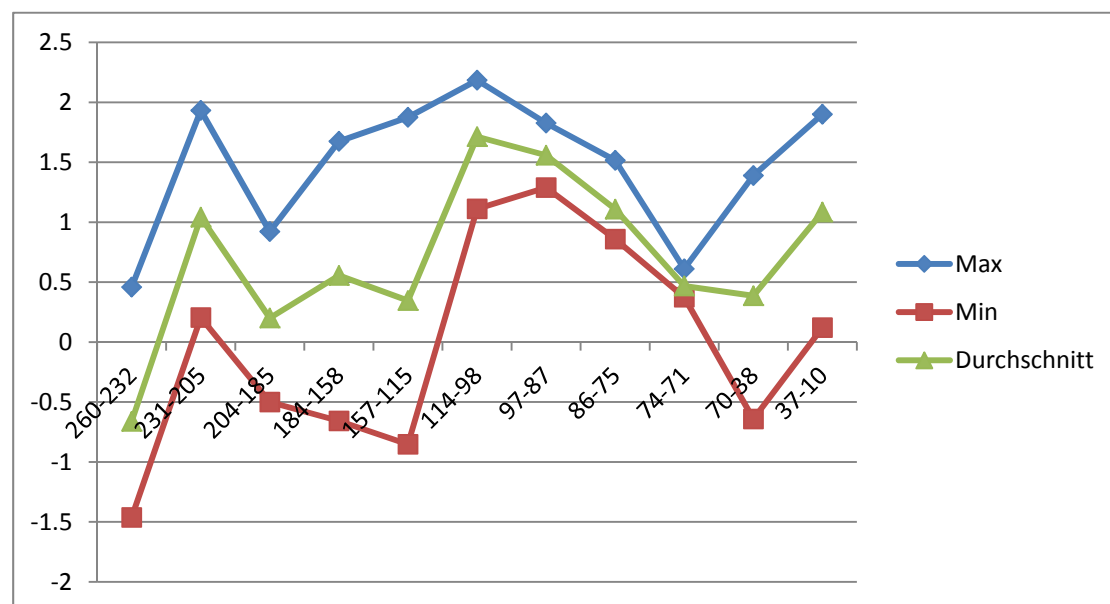


Abbildung 4. 6: Hydrophobizität bei Window Size 19

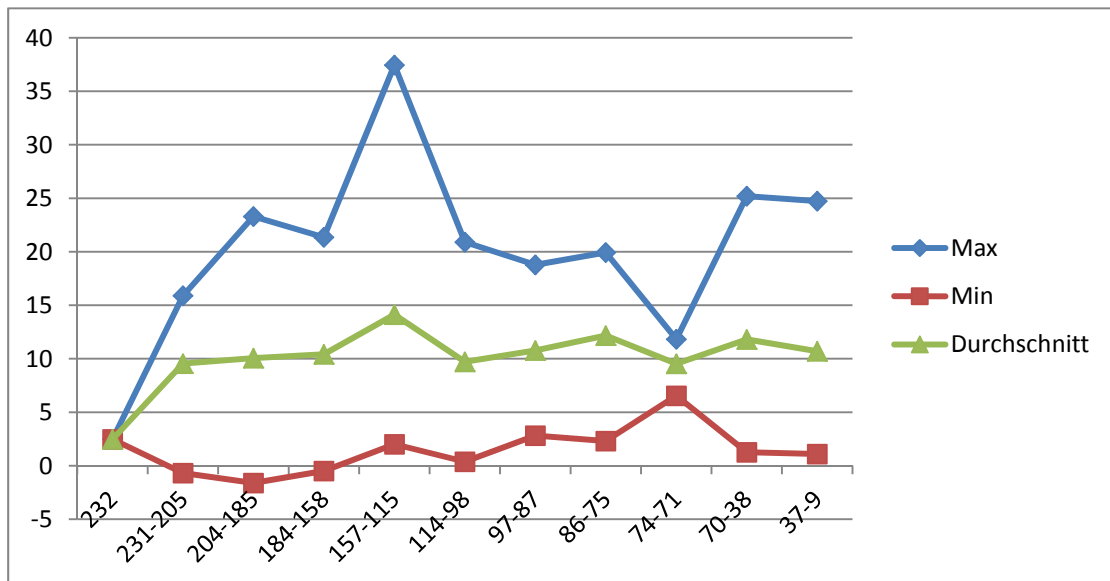


Abbildung 4. 7: Energieanalyse der Human Aquaporin-1

Positionsbereich in Protein	Methode	Position mit Max	Position mit Min
260-232(232)	in Hydrophobizitätsprofile	233	260
	in Energieprofile	232	232
231-205	in Hydrophobizitätsprofile	223	212
	in Energieprofile	224	219
204-185	in Hydrophobizitätsprofile	185	201
	in Energieprofile	187	190
184-158	in Hydrophobizitätsprofile	175	164
	in Energieprofile	163	173
157-115	in Hydrophobizitätsprofile	147	129
	in Energieprofile	127	145
114-98	in Hydrophobizitätsprofile	103	114
	in Energieprofile	112	104
97-87	in Hydrophobizitätsprofile	90	95
	in Energieprofile	88	87
86-75	in Hydrophobizitätsprofile	86	77
	in Energieprofile	75	82
74-71	in Hydrophobizitätsprofile	72	71
	in Energieprofile	72	73
70-38	in Hydrophobizitätsprofile	61	42/44
	in Energieprofile	49	57
37-10(37-9)	in Hydrophobizitätsprofile	22/23	37
	in Energieprofile	36	30

Tabelle 4. 4: Positionsanalyse der Human Aquaporin-1

4.3.4 Analyse der Bovine Rhodopsin

Nach den Tabellen 3.7 und 3.14 sind folgende Abbildungen 4.8 und 4.9 erzeugt. Sie beschreiben die Analyse der Bovine Rhodopsin mit Disulfidbrückenbindung.

Zwischen den hellgrünen Linien dieser beider Abbildungen kann keine Beziehung formuliert werden. In Tabelle 4.5 ist eine Positionsanalyse vorgestellt. Diese sind auch unregelmäßig. Daraus folgt, dass es keine Aussage gibt, die die Beziehung zwischen den Hydrophobizitätsprofilen und den Energieprofilen der Bovine Rhodopsin mit Disulfidbrückenbindung beschreibt.

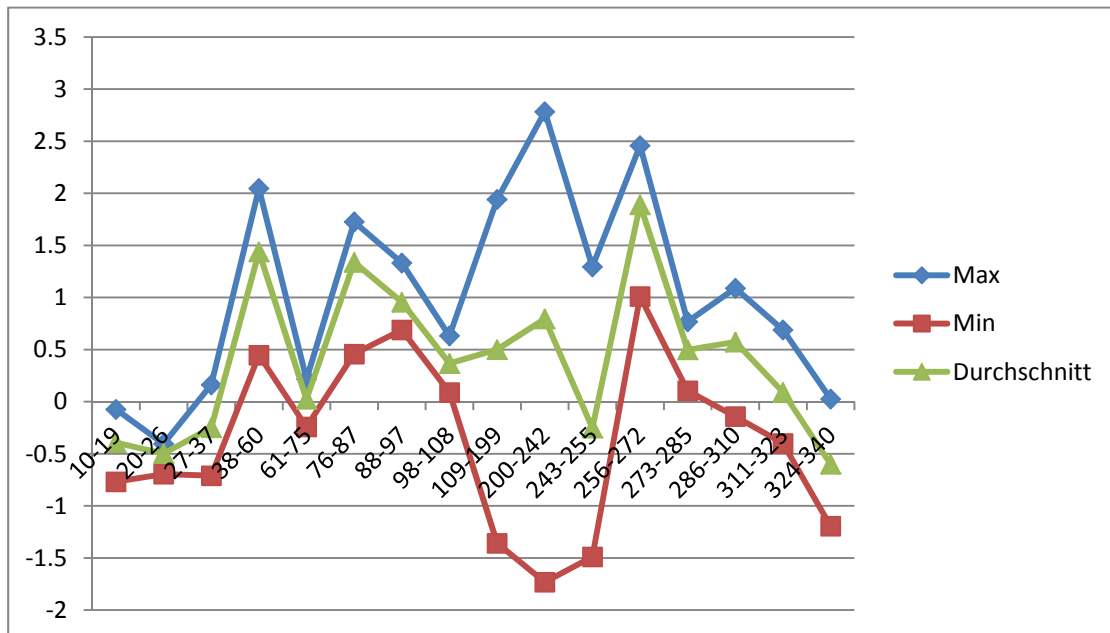


Abbildung 4. 8: Hydrophobizität bei window size 19 mit Disulfidbrückenbindung

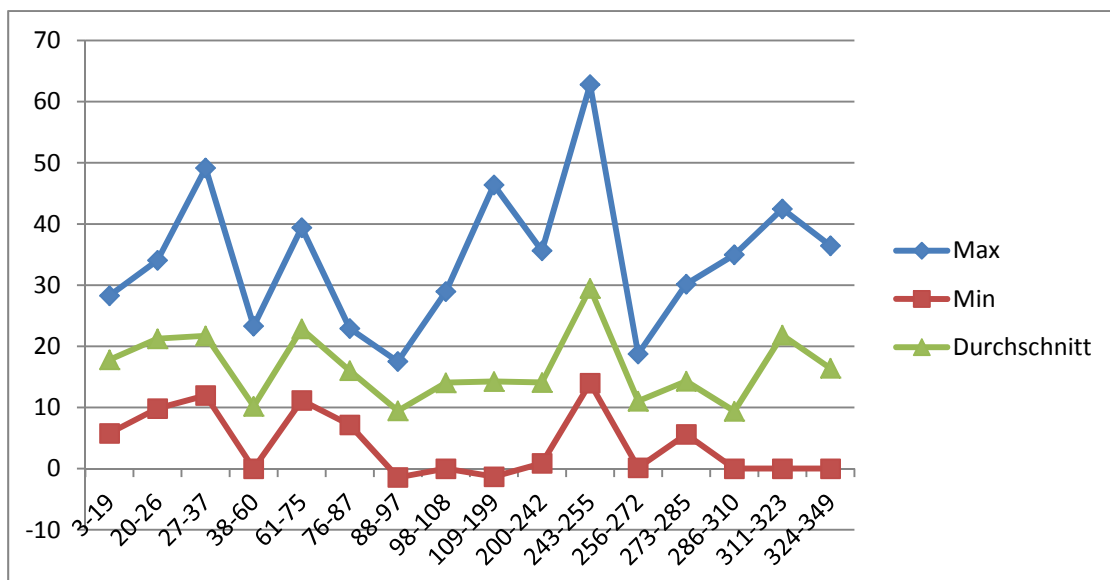


Abbildung 4. 9: Energieanalyse der Bovine Rhodopsin mit Disulfidbrückenbindung

Positionsbereich in Protein	Position mit Max in Hydro.	Position mit Max in Energ.	Position mit Min in Hydro.	Position mit Min in Energ.
10-19(3-19)	19	13	10	8
20-26	20/21	22	22	20
27-37	37	29	31	36
38-60	49	48	38	39/43/47/50/ 51/54/55
61-75	73	68	65	61
76-87	85	77	76	83
88-97	89	96	93	91
98-108	98	103	106	100
109-199	125	185	194	121
200-242	213	240	241	225
243-255	255	246	244	251
256-272	263	256	272	271
273-285	273	280	277	273
286-310	293	286	306	301/305/306/ 308/309/310
311-323	314	316	319	315
324-340(324-349)	326	339	335	330/331/349

Tabelle 4. 5: Positionsanalyse der Bovine Rhodopsin mit Disulfidbrückenbindung

Nach den Tabellen 3.8 und 3.15 sind folgende Abbildungen 4.10 und 4.11 erzeugt. Hier wird Bovine Rhodopsin ohne Disulfidbrückenbindung analysiert. Die hellgrünen Linien dieser beiden Abbildungen laufen sich unregelmäßig in der x-Richtung. In Tabelle 4.6 ist eine Positionsanalyse vorgestellt, aus der es keine Aussage existiert. Daraus folgt, dass es keine Formulierung gibt, die die Beziehung zwischen den Hydrophobizitätsprofilen und den Energieprofilen der Bovine Rhodopsin ohne Disulfidbrückenbindung beschreibt.

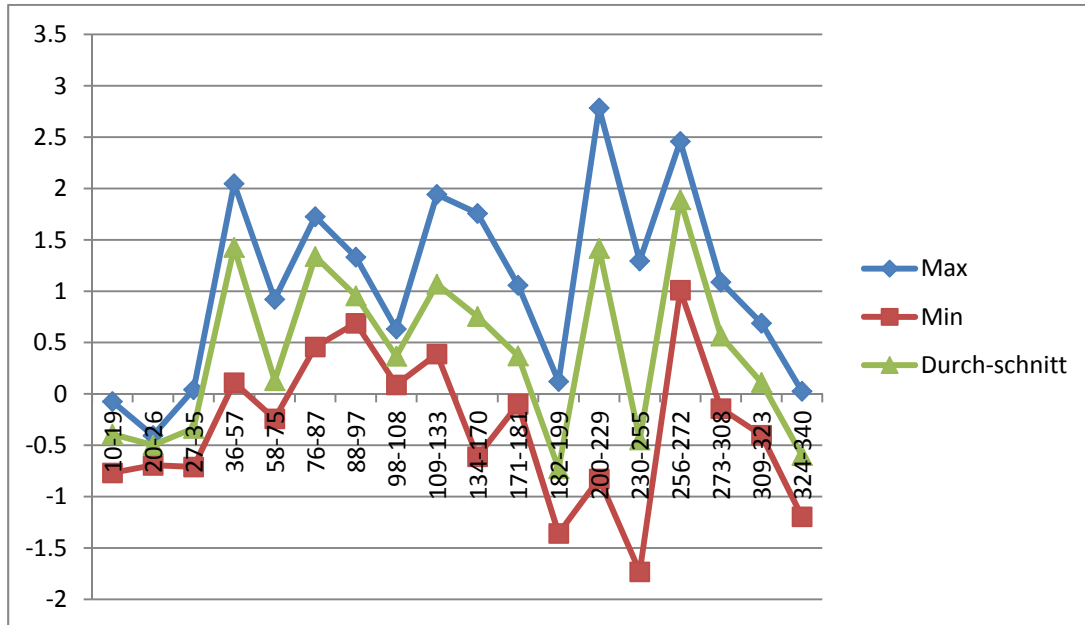


Abbildung 4. 10: Hydrophobizität bei window size 19 ohne Disulfidbrückenbindung

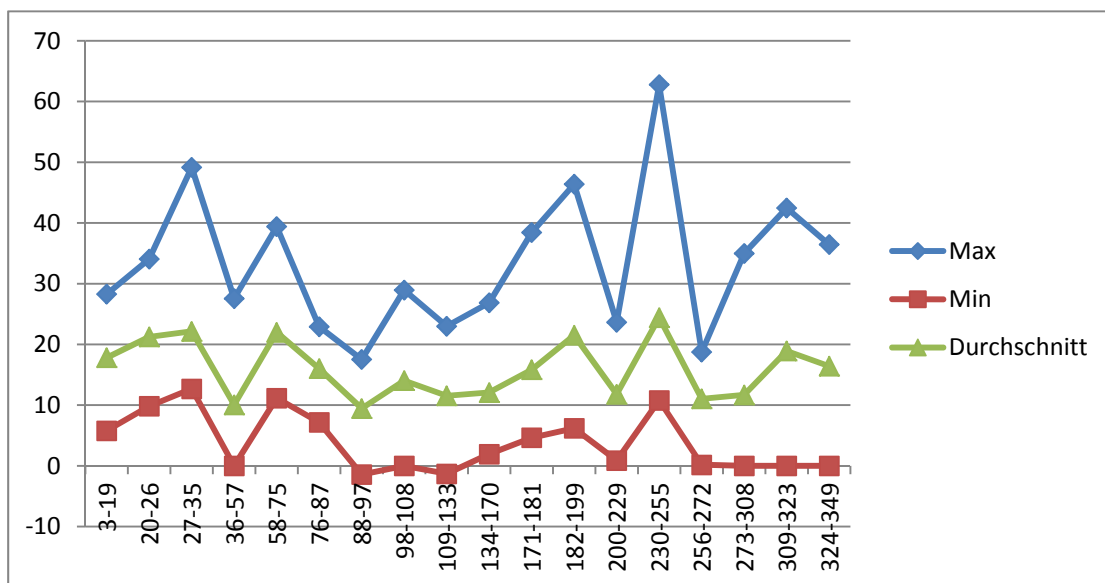


Abbildung 4. 11: Energieanalyse der Bovine Rhodopsin ohne Disulfidbrückenbindung

Positionsbereich in Protein	Position mit Max in Hydro.	Position mit Max in Energ.	Position mit Min in Hydro.	Position mit Min in Energ.
10-19(3-19)	19	13	10	8
20-26	20/21	22	22	20
27-35	34	29	31	31
36-57	49	37	36	39/43/47/50/ 51/54/55
58-75	58	68	65	61
76-87	85	77	76	83
88-97	89	96	93	91
98-108	98	103	106	100
109-133	125	132	110	121
134-170	164	151	144	157
171-181	171	178	180	175
182-199	182	185	194	188
200-229	213	200	200	225
230-255	255	246	241	236
256-272	263	256	272	271
273-308	293	286	306	301/305/306/ 308
309-323	314	316	319	309/310/315
324-340(324-349)	326	339	335	330/331/349

Tabelle 4. 6: Positionsanalyse der Bovine Rhodopsin ohne Disulfidbrückenbindung

4.3.5 Analyse der L-arginine/agmatine Antiporter AdiC

Nach den Tabellen 3.9 und 3.16 sind folgende Abbildungen 4.12 und 4.13 erzeugt. Diese sind die Analyse der L-arginine/agmatine Antiporter AdiC bei N-Terminusentfaltung. Die hellgrünen Linien dieser beiden Abbildungen sind zueinander unregelmäßig. In Tabelle 4.7 gibt es noch eine Positionsanalyse. Diese sind auch unregelmäßig. Daraus folgt, dass es keine Aussage gibt, die die Beziehung zwischen den Hydrophobizitätprofilen und den Energieprofilen der AdiC bei der N-Terminusentfaltung beschreibt.

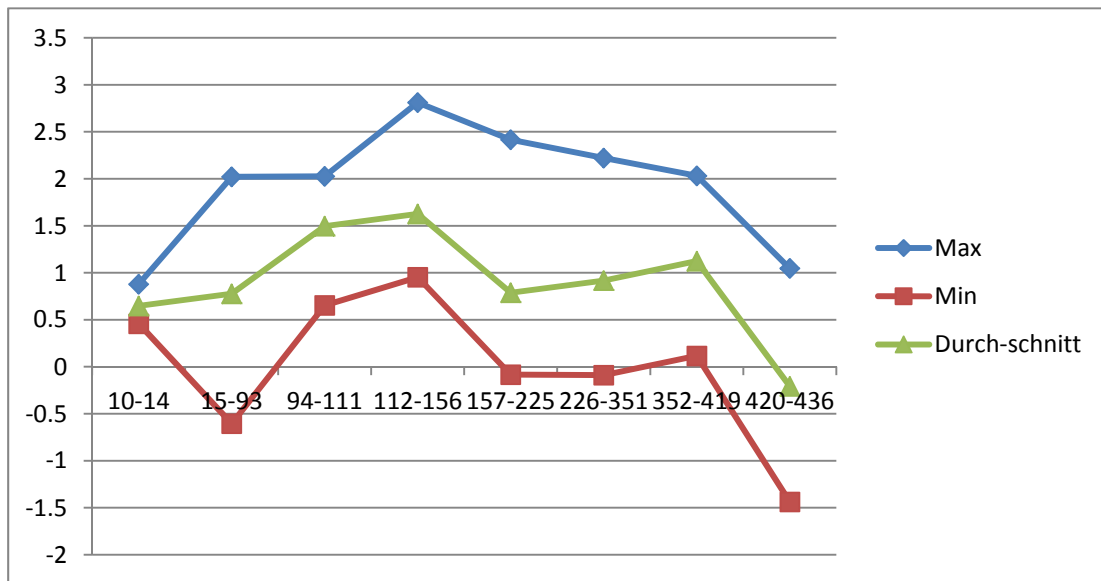


Abbildung 4. 12: Hydrophobizität bei Window Size 19 bei N-Terminus Entfaltung

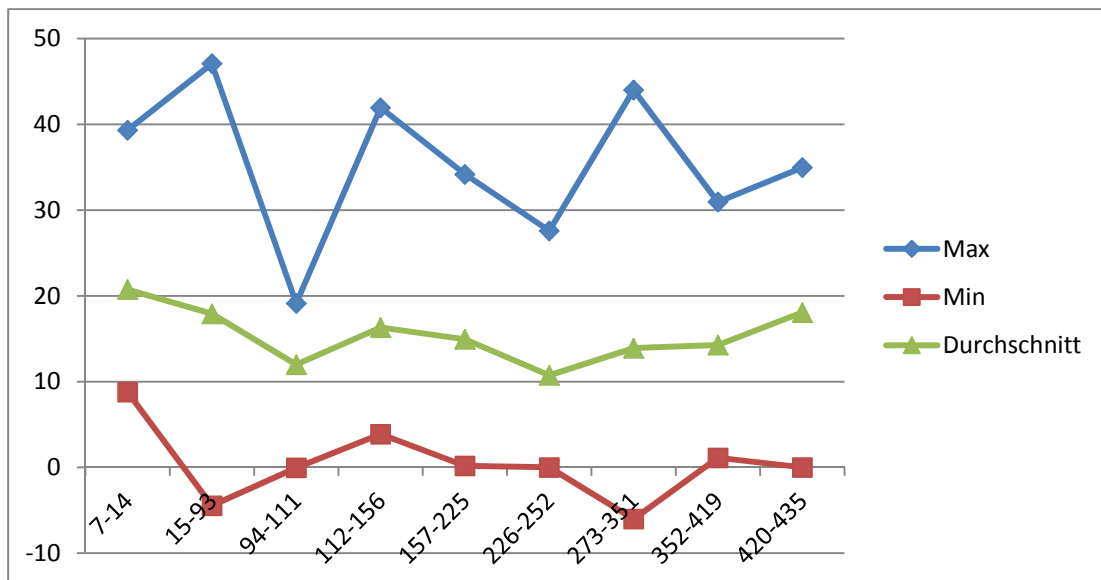


Abbildung 4. 13: Energieanalyse bei N-Terminusentfaltung

Positionsbereich in Protein	Position mit Max in Hydro.	Position mit Max in Energ.	Position mit Min in Hydro.	Position mit Min in Energ.
10-14(7-14)	14	9	13	13
15-93	50	79	70	25
94-111	100	102	95	108
112-156	133	145	149	154
157-225	159	218	216	169
226-351(226-252)	333	228	314	252
(273-351)		299		285
352-419	365/367	384	385	357
420-436(420-435)	420	430	436	435

Tabelle 4. 7: Positionsanalyse der AdiC bei N-Terminusentfaltung

Nach den Tabellen 3.10 und 3.17 sind folgende Abbildungen 4.14 und 4.15 erzeugt. Diese gelten für die Analyse der L-arginine/agmatine Antiporter AdiC bei C-Terminusentfaltung. Die hellgrünen Linien dieser beiden Abbildungen sind zueinander nicht proportional. In Tabelle 4.8 ist eine Positionsanalyse vorgestellt. Diese sind auch unregelmäßig. Daraus folgt, dass es keine Aussage gibt, die die Beziehung zwischen den Hydrophobizitätsprofilen und den Energieprofilen der AdiC bei der C-Terminusentfaltung beschreibt.

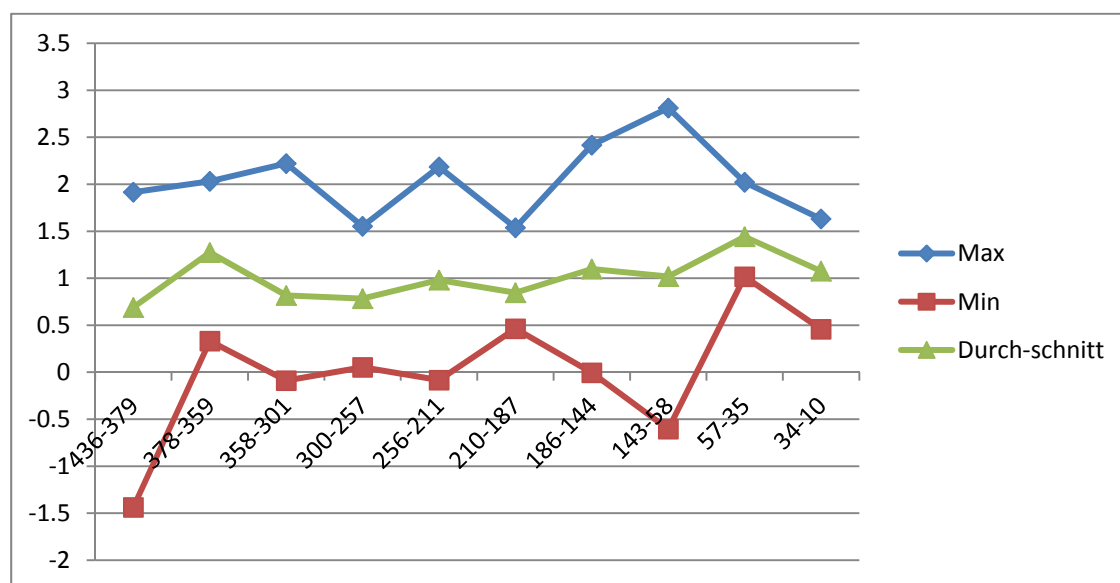


Abbildung 4. 14: Hydrophobizität bei Window Size 19 bei C-Terminus Entfaltung

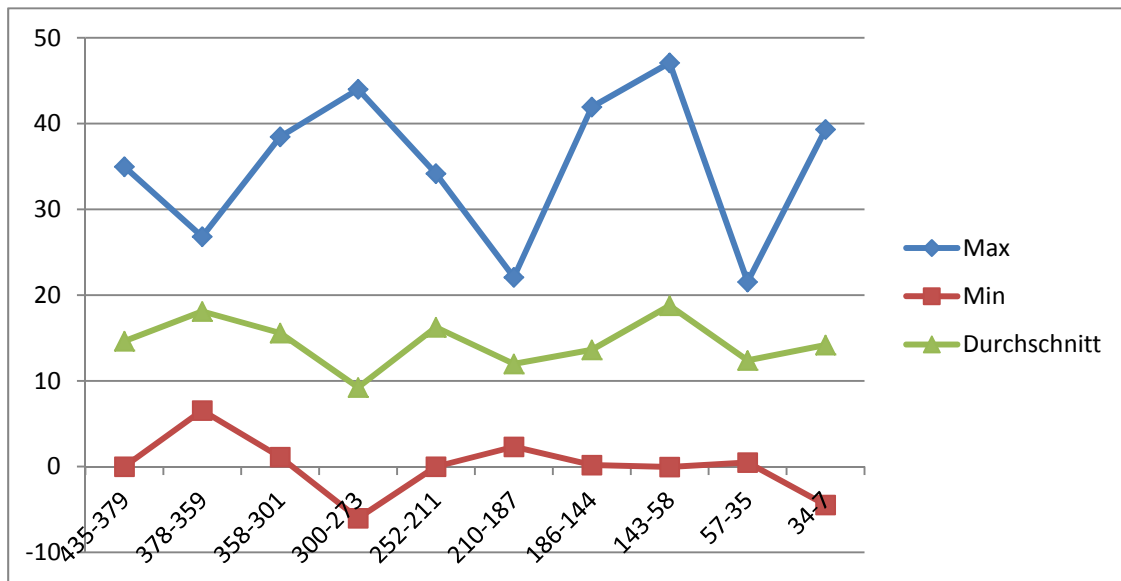


Abbildung 4. 15: Energieanalyse bei C-Terminusentfaltung

Positions-bereich in Protein	Position mit Max in Hydro.	Position mit Max in Energ.	Position mit Min in Hydro.	Position mit Min in Energ.
436-379(435-379)	395	430	436	435
378-359	365/367	368	376	369
358-301	333	302	314	357
300-257(300-273)	283	299	265	285
256-211(252-211)	241	218	216	252
210-187	208	210	191	206
186-144	159	145	177	169
143-58	133	79	70	108
57-35	50	35	40	55
34-10(34-7)	21/22	9	13	25

Tabelle 4. 8: Positionsanalyse der AdiC bei C-Terminusentfaltung

5 Literaturverzeichnis

Bücher

- [2] Paul M. Selzer; Richard J. Marhöfer; Anderas Rohwer: Angewandte Bioinformatik: Eine Einführung. Berlin Heidelberg New York: Springer-Verlag, 2004, S260
- [3] Arthur M. Lesk: Bioinformatik: Eine Einführung. Heidelberg Berlin: Spektrum Akademischer Verlag, 2003, S225-227
- [4] Arthur M. Lesk: Bioinformatik: Eine Einführung. Heidelberg Berlin: Spektrum Akademischer Verlag, 2003, S224
- [5] Hooman H. Rashidi; Lukas K. Bühler: Grundriss der Bioinformatik: Anwendungen in den Biowissenschaften und Medizin. Heidelberg Berlin: Spektrum Akademischer Verlag, 2001, S17
- [7] Andrea Hansen: Bioinformatik: Ein Leitfaden für Naturwissenschaftler. Basel. Boston. Berlin: Birkhäuser Verlag, 2004, S81
- [8] Andrea Hansen: Bioinformatik: Ein Leitfaden für Naturwissenschaftler. Basel. Boston. Berlin: Birkhäuser Verlag, 2004, S84-85
- [9] Andrea Hansen: Bioinformatik: Ein Leitfaden für Naturwissenschaftler. Basel. Boston. Berlin: Birkhäuser Verlag, 2004, S31
- [10] Andrea Hansen: Bioinformatik: Ein Leitfaden für Naturwissenschaftler. Basel. Boston. Berlin: Birkhäuser Verlag, 2004, S69-70
- [11] Arthur M. Lesk: Bioinformatik: Eine Einführung. Heidelberg Berlin: Spektrum Akademischer Verlag, 2003, S206-207
- [12] Andrea Hansen: Bioinformatik: Ein Leitfaden für Naturwissenschaftler. Basel. Boston. Berlin: Birkhäuser Verlag, 2004, S90

Internet

- [1] <http://www.biologie.uni-hamburg.de/b-online/e22/22.htm>, verfügbar am 01.08.2011
- [6] <http://gcat.davidson.edu/rakarnik/kyte-doolittle-background.htm>, verfügbar am 01.08.2011
- [13] PROSITE: Documentation PDOC00291. URL: < <http://prosite.expasy.org/>>, verfügbar am 01.08.2011
- [14] PROSITE: Documentation PDOC00193. URL: < <http://prosite.expasy.org/>>, verfügbar am 01.08.2011
- [15] PROSITE: Documentation PDOC00210. URL: < <http://prosite.expasy.org/>>, verfügbar am 01.08.2011

Abbildung

<http://www-brs.ub.ruhr-uni-bochum.de/netahtml/HSS/Diss/WolfSteffen/diss.pdf>,
verfügbar am 01.08.2011

Selbständigkeitserklärung

Ich erkläre hiermit, dass ich die vorliegende Arbeit selbständig und nur unter Verwendung der angegebenen Literatur und Hilfsmittel angefertigt habe.

Bearbeitungsort, Datum

Unterschrift